

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
PEDIATRIA

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR  
CITOMEGALOVÍRUS EM RECÉM-NASCIDOS DA  
UNIDADE DE TRATAMENTO INTENSIVO NEONATAL  
DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**

CLARISSA SCHREINER MIURA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil, 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
PEDIATRIA

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR  
CITOMEGALOVÍRUS EM RECÉM-NASCIDOS DA  
UNIDADE DE TRATAMENTO INTENSIVO NEONATAL  
DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**

CLARISSA SCHREINER MIURA

**Orientador: Prof. Dr. Ernani Miura**

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil, 2005

**M685p** Miura, Clarissa Schreiner

Prevalência de infecção congênita por citomegalovírus em recém-nascidos da Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre /Clarissa Schreiner Miura ; orient. Ernani Miura. – 2005.

70 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Infecções por citomegalovírus : Congênito 2. Infecções por citomegalovírus : Epidemiologia 3. Recém-nascido 4. Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal I. Miura, Ernani II.Título.

NLM: WS 421

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

*Este trabalho é dedicado ao meu esposo Márcio,  
aos meus pais Ernani e Elisabete e à minha  
afilhada Constanze.*

## AGRADECIMENTOS

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e, em especial:

- A todos os funcionários da UTI neonatal do HCPA, em especial aos técnicos de enfermagem, pelo auxílio na coleta do material da pesquisa.

- À Dra Janaína Campelo, pelo auxílio na coleta de dados.

- Ao Prof. Dr. Renato Procianoy, pelo apoio e sugestões para o trabalho.

- Ao Serviço de Patologia Clínica do HCPA e, em especial, à Alice Beatriz Mombach e à Marisa Cheski, pela realização das reações de PCR, pelas sugestões sempre pertinentes, que muito acrescentaram em meu trabalho, e pelo aprendizado na parte laboratorial.

- À Daniela da estatística, pelas sugestões e orientações na análise estatística.

- À minha avó Yelta, meu irmão Maurício, minha cunhada Sabrina, minha afilhada Constanze, à família Boff, familiares e amigos pela alegria, apoio e amizade.

- Á minha mãe Elisabete, pelo amor, incentivo e exemplo de vida.

- Ao meu pai e orientador Ernani Miura, pelo estímulo e incentivo na orientação desta pesquisa com extrema seriedade e competência, e pelo amor e amizade.

- Ao meu marido Márcio, pelo grande estímulo para que eu iniciasse este mestrado, pelo companheirismo nas horas de estudo e lazer, pela amizade e pelo amor que me faz tão feliz.

## SUMÁRIO

### LISTA DE ABREVIATURAS

### LISTA DE TABELAS

2.1 – INTRODUÇÃO.....	5
2.2–EPIDEMIOLOGIA.....	6
2.3– DIAGNÓSTICO.....	9
2.3.1 –DIAGNÓSTICO MATERNO.....	9
2.3.2 – DIAGNÓSTICO FETAL.....	12
2.3.3 – DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO CONGÊNITA NO RN.....	15
2.4 – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	17
2.5 – PROGNÓSTICO.....	20
2.6 – TRATAMENTO.....	21
2.7 – PREVENÇÃO.....	23
3.1 – OBJETIVO GERAL.....	26
4.1 – DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	28
4.2 – POPULAÇÃO.....	28
4.3 – AMOSTRA.....	29
4.4 – LOGÍSTICA.....	29
4.5 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31

4.6 – CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	32
5 – BIBLIOGRAFIA.....	33
6 – ARTIGO.....	46
RESUMO.....	47
ABSTRACT.....	48
INTRODUÇÃO.....	49
PACIENTES E MÉTODOS.....	51
RESULTADOS.....	54
DISCUSSÃO.....	56
BIBLIOGRAFIA.....	62
ANEXO 1.....	67
ANEXO 2.....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ac (s):	Anticorpo (s)
AIG:	Adequado para a idade gestacional
CASG:	<i>Collaborative Antiviral Study Group</i>
CMV:	Citomegalovírus
DNA:	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EUA:	Estados Unidos da América
GE:	Genoma equivalente
GIG:	Grande para a idade gestacional
HCPA:	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HSV:	Herpes simples vírus
Ig:	Imunoglobulina
MF(s):	Malformação (s)
PCR:	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
P. ex.:	Por exemplo
PIG:	Pequeno para a idade gestacional
RCIU:	Retardo de crescimento intra-uterino
RN (s):	Recém-nascido (s)
SNAPE-PE:	<i>Score for Neonatal Acute Physiology-Perinatal Extension</i>



SNC: Sistema nervoso central

SP: São Paulo

UTI: Unidade de Tratamento Intensivo

UTIN: Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal

HIV: *Human immunodeficiency virus*

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Incidência de infecções congênitas intra-uterinas por 100.000 nascimentos nos EUA.....	6
---	---

# **INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

A infecção congênita por citomegalovírus (CMV) é atualmente a infecção intra-uterina mais comum, tendo uma prevalência de 0,2 a 2,2% (STAGNO, S.; *et al.*, 1983.).

É a principal causa infecciosa de surdez congênita e dificuldade de aprendizado na infância e, hoje em dia, tem um impacto social muito maior que o de doenças mais conhecidas, como, por exemplo, a rubéola (HANSHAW, J.B., 1982; HARRIS, S.; *et al.*, 1984).

Sua transmissão ocorre durante a gestação, via transplacentária, e o diagnóstico pode ser feito na mãe, durante o pré natal, no feto ou no recém-nascido (RN) (REVELLO, M.G.& GERNA, G., 2002). Em nosso meio, nenhum dos testes é feito como rotina, e a prevalência dessa infecção é desconhecida.

Das crianças com infecção congênita, apenas 10 a 15% têm sintomas ao nascimento. Nessas, a mortalidade chega até 20 a 30%, e o restante apresentará graves seqüelas. Das 90% assintomáticas ao nascer, 5 a 15% poderão apresentar sintomas tardios, até 2 a 3 anos de idade, como surdez e retardo mental (PASS, R.F.; *et al.*, 1980; BOPPANA, S.B.; *et al.*, 1992).

Os principais sintomas ao nascimento são petéquias, hepatoesplenomegalia, prematuridade, retardo de crescimento intra-uterino, microcefalia, calcificações cerebrais e coriorretinite (PASS, R.F.; *et al.*, 1980).

O diagnóstico precoce é de grande importância, pois proporcionaria a opção de tratamento em crianças sintomáticas e o acompanhamento e detecção precoce de seqüelas

tardias nas crianças sintomáticas e assintomáticas, levando a um melhor desenvolvimento da linguagem.

Ainda não existe um tratamento de benefício comprovado. Muitos estudos estão sendo feitos com o Ganciclovir e medicações semelhantes, e o Ganciclovir já mostra uma melhor evolução na audição de pacientes sintomáticos e com alterações neurológicas nos primeiros 6 meses e provavelmente no primeiro ano de vida (WHITLEY, R.J.; *et al.*, 1996, ZHOU, X.J.; *et al.*, 1996, KIMBERLIN, D.W.; *et al.*, 2003).

Apesar da importância dessa infecção congênita, existem poucos estudos mostrando sua prevalência em nosso país. A população de RNs de uma unidade de tratamento intensivo neonatal (UTIN), por estar associada a gestações de alto risco, constitui-se de pacientes com maior risco para essa infecção. No entanto, a prevalência dessa infecção na UTIN do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) ainda não é conhecida.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a prevalência da infecção congênita por CMV nos RNs da UTIN do HCPA.

# **REVISÃO DA LITERATURA**

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 – INTRODUÇÃO

O citomegalovírus (CMV) pertence à família dos herpesvírus e é causa freqüente de infecção nos seres humanos. Ao infectar o homem, este vírus sofre períodos de ativação e latência. Apesar de poder infectar várias células, as únicas que realmente permitem sua replicação são os fibroblastos humanos. Devido à tendência à latência desse grupo de vírus, uma vez que a mulher é infectada, o vírus permanece indefinidamente no corpo do hospedeiro, podendo haver uma reativação a qualquer momento (CASTEELS, A.; *et al.*, 1999.). Os leucócitos infectados cruzam a barreira placentária, entrando na circulação fetal através dos vasos do cordão umbilical. O vírus se replica nos tecidos fetais e é excretado no líquido amniótico através da urina fetal. O líquido amniótico infectado é deglutido pelo feto e o vírus pode se replicar na orofaringe e entrar na circulação fetal, atingindo outros órgãos (GAYTANT, M.A.; *et al.*, 2002). A infecção por citomegalovírus é geralmente assintomática no paciente imunocompetente. No entanto, infecção severa com diferentes manifestações clínicas pode ocorrer em pacientes com a imunidade comprometida como sidéticos, transplantados ou recém-nascidos (RNs). Ao infectar o feto ou o RN, pode levar à doença aguda grave ou a seqüelas tardias (PECKHAM, C.S., 1991). Esse tipo de apresentação clínica é característica do vírus. Nos dias de hoje, o prejuízo social causado por essa infecção, a principal causa infecciosa de surdez

congenita e retardo mental, já é mais importante do que infecções mais conhecidas, como, por exemplo, a rubéola (HANSHAW, J.B., 1982; HARRIS, S.; *et al.*, 1984).

O reconhecimento precoce de crianças com infecção congênita sintomática permite intervenção terapêutica nos casos graves, já que existem evidências atuais dos benefícios da administração de drogas antivirais em crianças com envolvimento multissistêmico, particularmente do sistema nervoso central (KIMBERLIN, D.W.; *et al.*, 2003). A detecção de crianças com infecção assintomática também é de extrema importância, pois pode definir crianças de risco para o desenvolvimento de seqüelas futuras, uma vez que o comprometimento auditivo e/ou neurológico podem não ser identificados ao nascimento.

## 2.2 – EPIDEMIOLOGIA

A infecção congênita por CMV é a infecção congênita viral mais comum. Além disso, é a principal causa infecciosa de malformações de sistema nervoso central (SNC). Sua incidência varia em diferentes populações entre 0,2 a 2,2% (WILLIAMSON, W.D., *et al.*, 1982; CONBOY, T.; *et al.*, 1987; STAGNO, S.; *et al.*, 1983). Para se ter uma idéia da importância desta infecção, a tabela 1 mostra a incidência das principais infecções intra-uterinas nos Estados Unidos.

TABELA 1 – Incidência de infecções intra-uterinas (por 100.000 nascimentos) nos EUA.

<i>Agente Infeccioso</i>	<i>Incidência (por 100.000 nascimentos)</i>	<i>Doença sintomática ao nascimento (por 100.000 nascimentos)</i>	<i>Referência</i>
<b>Citomegalovírus</b>	<b>1.000</b>	<b>100</b>	<b>STAGNO, S., 2001; WELLER, T.H. &amp; HANSHAW, J.B., 1962</b>
<b>Toxoplasma gondii</b>	<b>8</b>	<b>&lt;1</b>	<b>GUERINA, N.G.; <i>et al.</i>, 1994</b>
<b>HIV</b>	<b>2</b>	<b>&lt;1</b>	<b>EBERHARDT, M.S.; <i>ET AL.</i>, 2001</b>
<b>Rubéola</b>	<b>&lt;1</b>	<b>&lt;1</b>	
<b>Herpes virus</b>	<b>&lt;1</b>	<b>&lt;1</b>	
<b>Varicela zoster</b>	<b>&lt;1</b>	<b>&lt;1</b>	
<b>Sífilis</b>	<b>13</b>	<b>4</b>	<b>REYES, M.P.; <i>et al.</i>, 1993</b>

(MODLIN, J.F.; *et al.*, 2003)



Um estudo realizado em um hospital no México mostrou uma prevalência de 0,89% (de 560 crianças estudadas, 5 foram positivas). Esse estudo foi realizado em RNs saudáveis e a infecção foi mais prevalente em mulheres jovens, primíparas e de zona rural (NOYOLA, D.E.; *et al.*, 2003.). Em Belo Horizonte, Minas Gerais, foi realizado um estudo para determinar a prevalência da infecção congênita por CMV, através do método de *polymerase chain reaction* (PCR), em uma UTIN. Essa foi de 6,8% (20 de 292 casos) (SANTOS, D.V.; *et al.*, 2000). Um estudo realizado em Israel, utilizando a técnica de PCR para a detecção do DNA do CMV, mostrou uma prevalência de 0,7% (SCHLESINGER, Y., *et al.*, 2003). Há uma associação de maior prevalência em classes socioeconômicas mais baixas, mulheres adolescentes e pessoas com maus cuidados de higiene. Sua prevalência chega a ser 5 a 10 vezes maior nessas populações. Nos Estados Unidos, por exemplo, a soropositividade é de 50 a 60% em mulheres de classe média, chegando a 70-80% nas classes sociais mais baixas. Acredita-se que nesses grupos a transmissão ocorra através da saliva ou contato sexual. Um estudo realizado no Chile comparou a prevalência desta infecção em populações de condição socioeconômica alta e baixa, não havendo diferença entre elas. A prevalência semelhante, em duas classes econômicas distintas, foi atribuída à alta prevalência de CMV em mulheres de ambas as classes sociais nesse país (LUCHSINGER, V.F.; *et al.*, 1996). O contato com crianças pequenas aumenta a chance de transmissão, que ocorre através da urina, saliva e secreções respiratórias (GERDAY, E.& GROOSE, C., 2004). A taxa de soroconversão, em mulheres soronegativas para CMV com, pelo menos, uma criança em casa, chega a ser duas vezes maior que em mulheres que não têm contato próximo com crianças (DWORSKY, M.E.; *et al.*, 1983).

A infecção congênita é aquela transmitida da mãe para o feto, transmissão vertical, intra-útero. Quando transmitida da mãe para o RN, é considerada infecção perinatal, transmissão

horizontal. Essa pode ocorrer através de secreções genitais (na hora do parto), secreções respiratórias (menos comum), leite materno e transfusão sanguínea (STAGNO, S.; *et al.*, 1980).

A transmissão intra-útero pode ocorrer tanto em infecções maternas primárias quanto em infecções recorrentes (por reativação viral ou por reinfecção por outro subtipo viral, que é mais rara, ocorrendo principalmente em populações com maior promiscuidade sexual). Quando a infecção materna é primária, a chance de transmissão para o feto é mais alta e os sintomas são mais graves. Um estudo recentemente realizado comparou a taxa de transmissão da infecção de acordo com a imunidade materna para o CMV, e concluiu que a presença de anticorpos (Acs) maternos preexistentes anti-CMV são protetores contra essa infecção em futuras gestações. Assim, infecções maternas recorrentes por CMV não produzirão uma sintomatologia tão grave quanto as infecções primárias, devido à presença de Acs protetores (FOWLER, K.B.; *et al.*, 2003).

A chance de transmissão da infecção é semelhante em qualquer fase da gestação, mas, quando ocorre em fase inicial, antes de 20 semanas, o prognóstico é pior e há maior número de malformações (MFs)(STAGNO, S.; *et al.*, 1986).

Após uma infecção materna primária, a transmissão fetal ocorre em 30 a 40% dos casos, e, desses, 10% apresentarão sintomas. Em mulheres com infecção reativada, a taxa de transmissão e sintomas é significativamente mais baixa, mas, mesmo assim, há relatos de sintomatologia severa. Acredita-se que infecção congênita em RNs de mulheres com imunidade prévia ocorra por reinfecção com outras cepas de CMV (BOPPANA, S.B.; *et al.*, 2001).

Foi estudada também a associação de infecção congênita por CMV em gestantes HIV positivas. Há relatos de uma maior prevalência de infecção congênita por CMV nesta população por haver uma depressão da imunidade. Um estudo realizado em Ribeirão Preto (SP) comparou a

prevalência de infecção congênita e perinatal por CMV em gestantes HIV positivas e HIV negativas, não mostrando diferença significativa na prevalência de infecção congênita por CMV, provavelmente porque todas as gestantes HIV positivas encontravam-se em fase inicial da doença sem um comprometimento importante da imunidade (PINHATA, M.M.; *et al.*, 1998).

Em relação à sua associação com prematuridade, um estudo realizado em São Paulo não mostrou diferença na prevalência desta infecção em RNs a termo e prematuros. Dentre os RNs prematuros, também não houve diferença na prevalência entre os abaixo ou acima de 34 semanas. Os dados do estudo sugerem que os RNs prematuros apresentem sintomas com maior frequência que os RNs a termo (YAMAMOTO, A.Y.; *et al.*, 2001).

Há poucos relatos de infecção congênita por CMV em gêmeos. Fetos gemelares podem reagir de diferentes maneiras à infecção materna, havendo grande variabilidade na transmissão e sintomatologia clínica. (REVELLO, M.G. & GERNA, G.; 2002).

## **2.3 - DIAGNÓSTICO**

### **2.3.1 – DIAGNÓSTICO MATERNO**

O diagnóstico da infecção primária materna é um dos principais objetivos hoje em dia. Ele pode ser feito através de sorologia, detecção do vírus no sangue e sinais e sintomas clínicos (LAZZAROTTO, T.; *et al.*, 1999).

O diagnóstico sorológico ideal de infecção primária é feito através do aparecimento de Acs IgG anti CMV em mulheres previamente negativas. No entanto, esta é uma estratégia difícil,

pois haveria a necessidade de um programa de triagem que identificasse mulheres soronegativas e as acompanhasse durante toda a gestação. Também pode-se utilizar a dosagem de Acs IgM anti CMV (ELISA), que indica infecção ativa, recente. No entanto, não serve para diferenciar infecção primária de reativação. Quando os títulos são mais altos e caem rapidamente, indicam infecção recente. Já se os títulos são mais baixos e diminuem lentamente, indica infecção mais antiga, adquirida antes da concepção. Nem sempre o IgM positivará em infecções recorrentes (CASTEELS, A.; *et al.*, 1999.). Se não for possível diferenciar uma infecção primária de uma recorrente, pode-se usar o teste IgG de avidéz. Quando a infecção é mais recente, a avidéz dos Acs é baixa e, quando a infecção é mais antiga, a avidéz é elevada, ou seja, acima de 30% (SHOBY, C.T.; *et al.*, 2002). Logo, uma alta avidéz significaria infecção mais antiga (recorrente), com um risco fetal menor. Um estudo realizado na Bélgica avaliou os testes sorológicos nas gestantes como rastreamento para detectar RNs com maior risco de infecção congênita por CMV. Todas as gestantes (7140 mulheres) tiveram IgM e IgG dosadas na primeira consulta de pré-natal e no sangue de cordão na hora do parto e foram divididas em 4 grupos: 3098 mulheres sem imunidade prévia (IgM e IgG negativas), 44 que positivaram IgG ou IgM durante a gestação (soroconversão), 3850 que já tinham IgG positiva (imunidade prévia) e 192 que tinham IgG e IgM positivas. Destas gestantes que entraram no estudo, foi possível realizar cultura para CMV na urina de 5599 RNs, com 0% de testes positivos no primeiro grupo, 50% de positividade no grupo que soroconverteu, 0,21% de soropositividade no grupo com imunidade prévia e 7,3% de positividade no grupo com IgM e IgG positivas. Esse estudo concluiu que testes sorológicos para rastreamento de gestantes no pré-natal definem os grupos de maior risco para infecção congênita por CMV, que seriam mulheres que soroconvertem e mulheres com IgM positiva durante a gestação. Nesses grupos, a cultura para CMV na urina deveria ser realizada,

permitindo a detecção de 82% das infecções congênitas por CMV (NAESSENS, A.; *et al.*, 2005). A crítica a este estudo é que RNs com infecção congênita transmitida por mães com infecção por CMV recorrente (que, apesar de terem sintomatologia mais leve, também podem desenvolver seqüelas auditivas) e filhos de mães sem acesso a um pré-natal adequado deixariam de ser rastreados (DEMMLER, G.J., 2005).

A detecção do vírus no sangue estabelece o diagnóstico de infecção, mas não define se esta é primária ou recorrente. Pode ser feita por cultural viral, detecção de DNA ou RNA viral. Quando positiva em mulher imunocompetente, é considerada infecção primária.

Em relação às características clínicas, a grande maioria das infecções por CMV em mulheres imunocompetentes é assintomática. Menos de 5% apresentarão sintomas leves (mal estar, cefaléia, mialgia) e um grupo ainda menor, um quadro infeccioso tipo mononucleose (febre, adenopatia cervical, dor de garganta, hepatoesplenomegalia e rash cutâneo). Isso é importante para precisar a data de aparecimento da infecção, a fim de determinar prognóstico e chance de uma infecção congênita (uma infecção pré-concepção é menos grave) e facilitar o diagnóstico junto aos testes sorológicos, diminuindo a incidência de falsos positivos (REVELLO, M.G. & GERNA, G., 1999).

Quanto aos marcadores de risco, não há correlação entre carga viral no sangue materno e taxa de transmissão intra-uterina ou sintomatologia clínica (LAZZAROTTO, T.; *et al.*, 2000).

### **2.3.2 - DIAGNÓSTICO FETAL**

Especialistas que são contra o diagnóstico pré-natal da infecção por CMV justificam esta atitude porque não existe um tratamento específico para a mesma durante a gestação. Além

disso, apenas 35 a 40% das mães infectadas transmitem a infecção ao feto (STAGNO, S.; *et al.*, 1982) e, destes, a maioria será assintomática (FOWLER, K.; *et al.*, 1982). Por outro lado, as vantagens de um diagnóstico precoce são estudar melhor a história natural da infecção congênita por CMV, preparar a família para os problemas de saúde que poderão ser encontrados em seu filho e permitir a identificação de marcadores prognósticos da doença. O diagnóstico pré-natal representa o primeiro passo que antecede a existência de um tratamento no futuro (GROSE, C. & WEINER, C.P., 1990). Além disso, permite um acompanhamento completo destas crianças nos primeiros anos de vida, levando a um diagnóstico e correção precoce de deficiência auditiva, reduzindo, assim, o risco de alterações secundárias no desenvolvimento. Por fim, em países onde o aborto é permitido, conforme a gravidade do caso, o diagnóstico pré-natal pode definir a necessidade ou não de interrupção da gestação.

O diagnóstico fetal pode ser feito através de sangue ou líquido amniótico obtidos por cordocentese (após a 17<sup>a</sup> semana de gestação) ou amniocentese. Estudos indicam que a sensibilidade diagnóstica da amniocentese é significativamente melhor após 21 semanas de gestação (LIESNARD, C.; *et al.*, 2000). Esses exames não são isentos de risco. A cordocentese pode levar a sangramento, bradicardia fetal transitória (7 a 9%), parto prematuro (2 a 5%) e perda fetal (1,7 a 1,9%) (STAGNO, S.; *et al.*, 1982). Na amniocentese as complicações são mais raras: perda fetal (<1%), sangramento e perda de líquido amniótico (GROSE, C.; *et al.*, 1989). As indicações para esses exames são infecção por CMV primária na mãe e alterações ecográficas associadas a esta infecção (retardo de crescimento intra-uterino, ascite ou hidropsia e alterações de SNC) (REVELLO, M.G. & GERNA, G., 2002). Após a coleta de amostras, o sangue fetal pode ser utilizado para a dosagem de IgM. Como é coletada muito precocemente, entre 20 e 23 semanas, é pouco sensível, podendo positivar ao

longo da gestação. Assim, não é um bom marcador diagnóstico. Entretanto, já se observou que altos índices de IgM correlacionam-se a crianças sintomáticas, logo, é um bom marcador prognóstico (REVELLO, M.G.; *et al.*, 1999). O isolamento viral no líquido amniótico, por sua alta sensibilidade e especificidade, é considerado o exame diagnóstico de escolha (GROSE, C.; *et al.*, 1992). A presença do vírus no líquido amniótico é um marcador de infecção fetal e congênita. Este pode ser feito por cultura viral ou PCR. O método de PCR foi modificado para melhorar a eficácia (PCR dupla – “nested”), diminuindo o número de falsos negativos. Ainda não tem uma sensibilidade de 100% porque a infecção pode ser transmitida mais tardiamente na gestação. Para diminuir a taxa de falsos negativos, recomenda-se fazer o exame mais tardiamente e esperar um tempo em torno de 7 semanas entre o aparecimento dos sintomas maternos e a coleta do exame. A especificidade do exame é de 100% (LIESNARD, C.; *et al.*, 2000).

Ecografias fetais frequentes em fetos com transmissão comprovada podem ajudar no diagnóstico precoce de anomalias fetais mais severas (hidrocefalia, microcefalia, calcificações cerebrais), já identificando os RNs com risco aumentado de seqüelas. Em fetos sem o diagnóstico de infecção, a ecografia pode identificar fetos com MFs, sendo às vezes o primeiro exame que leva o médico a suspeitar de infecção por CMV. Os principais achados são alterações na ecogenicidade periventricular, lisencefalia, displasia cortical ou hipoplasia cerebelar. Na suspeita de alteração, deve-se realizar a ecografia transvaginal para melhor visualização. A presença destes sinais sugestivos de infecção por CMV é uma indicação para a realização de exame mais específico (amniocentese) a fim de demonstrar infecção ativa pelo vírus. A combinação destes achados é associada com um mau prognóstico, e em países

onde é permitida, a interrupção da gestação deve ser considerada (MALINGER, G.; *et al.*, 2003).

Quanto aos marcadores prognósticos fetais, sabe-se que, quanto mais precoce for a transmissão da infecção (antes de 16 semanas de gestação), maior será a sintomatologia. Uma carga viral mais alta no líquido amniótico pode correlacionar-se tanto a uma criança sintomática quanto assintomática; já a carga mais baixa estará sempre associada à criança assintomática. Em um estudo coletou-se PCR para CMV qualitativo e quantitativo no líquido amniótico de gestantes com suspeita de infecção por CMV, correlacionando a carga viral com a sintomatologia. Concluiu-se que uma carga viral menor que  $10^3$  genona equivalente/ml acarreta uma probabilidade de 81% de ausência de infecção. A carga maior ou igual a  $10^3$  GE/ml e menor que 100000 GE/ml acarreta 100% de chance de infecção mas 92% de probabilidade de ausência de sintomas. Já uma carga maior ou igual a 100000 GE/ml acarreta uma chance de 100% de sintomatologia clínica. Estes dados são muito importantes para aconselhamento materno e possível tratamento no futuro (GUERRA, B.; *et al.*, 2000).

Crianças com infecção sintomática excretam o CMV por mais tempo (REVELLO, M.G.; *et al.*, 1999) e em maiores quantidades nos primeiros meses após o nascimento do que crianças assintomáticas (STAGNO, S., 2001), levando de meses a anos para sua eliminação. Esses dados indicam que a quantificação da carga viral excretada, pelo menos nos primeiros meses após o nascimento, pode correlacionar-se a maior sintomatologia.



### 2.3.3 - DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO CONGÊNITA NO RN

Em toda a infecção congênita haverá produção específica de Acs iniciada intra-útero, que continuará por um longo período após o nascimento. Os Acs da classe IgG são os mais fáceis de se dosar. No entanto, sua interpretação correta é um pouco complicada, já que a presença de IgG no sangue fetal pode ser devido a Acs de origem materna que passaram a barreira placentária. Se a dosagem de IgG é negativa no sangue do RN e no sangue materno, fica claro que não houve infecção. Se for positiva no sangue do RN e negativa no sangue materno, indica infecção pós-natal (p. ex. transfusão sanguínea). Em RNs não infectados, nascidos de mães soropositivas, os títulos de IgG diminuem à metade no primeiro mês de vida e desaparecem até o 4º ao 9º mês. Ao contrário, em RNs com infecção congênita, os títulos de IgG são iguais ou mais altos que os maternos e persistem sem diminuição por longos períodos. Como os RNs infectados produzem seus próprios Acs, sua detecção é o método diagnóstico mais prático. Como a IgM não atravessa a placenta, sua detecção no sangue do RN indica infecção fetal. Entretanto, pode haver falsos negativos por baixa produção de Acs. Além disso, 50% dos RNs com infecção congênita por CMV não produzem Acs da classe IgM (JONES, R.N.; *et al.*, 2000).

O diagnóstico de infecção ao nascimento, ou nas duas primeiras semanas de vida, é necessário para confirmar transmissão materna ou para diagnóstico em mães com forte suspeita de infecção primária durante a gestação. O isolamento do vírus deve ser feito neste período, pois, após, a positividade viral pode ser devido à transmissão pós-natal através de leite materno, transfusão sanguínea, ou ainda por secreções do canal de parto.

A urina e a saliva são as secreções preferenciais para o isolamento viral. Os exames ideais para este diagnóstico são a cultura viral ou a identificação do DNA viral através do

método de PCR, ambos com alta sensibilidade e especificidade. O método de PCR tem algumas vantagens: necessita menor quantidade de amostras (saliva ou urina), resultados mais rápidos (24-48 horas versus 2 até 28 dias), e as amostras podem ser congeladas e armazenadas. Um estudo que realizou PCR no sangue de RNs concluiu o seguinte: a determinação do DNA no sangue por PCR para diagnóstico de infecção congênita por CMV é tão sensível e específica quanto na urina (BRYTTING, M.; *et al.*, 1992, NELSON, C.T.; *et al.*, 1995); cargas virais significativamente mais altas estão relacionadas a maior sintomatologia; a eliminação viral ocorre espontaneamente tanto em RNs sintomáticos quanto nos assintomáticos, apesar de ser mais demorada nos RNs sintomáticos. A eliminação viral pode continuar ocorrendo por vários anos e a duração do tempo de excreção viral não se relaciona com o tempo ou modo como a infecção foi adquirida. Entretanto, se quantificarmos o vírus excretado, crianças sintomáticas excretarão maiores quantidades nos primeiros 6 meses de vida (REVELLO, M.G.; *et al.*, 1999).

Há estudos que mostram que o uso da saliva seria mais fácil, com menor custo, mais prático e tão eficaz quanto o uso de urina. A saliva é um material de mais fácil coleta e mais barato, facilitando o rastreamento universal. No entanto, pode haver vírus na boca (da cérvix materna ou leite materno), acusando um resultado positivo em RNs sem infecção. Assim, a saliva deve funcionar como um teste de rastreamento, e, nos casos positivos, se confirma o resultado em amostra de urina (BALCAREK, K.B.; *et al.*, 1993).

A detecção do DNA viral pela técnica de PCR na urina é um método conveniente, factível e altamente sensível e específico para o diagnóstico de infecção congênita por CMV em RNs (XU, W.; *et al.*, 1993, YAMAMOTO, A.Y.; *et al.*, 1998, SCHLESINGER, Y.; *et al.*, 2003).

## 2.4 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Dentre os RNs com com infecção congênita por CMV, 10% apresentarão manifestações clínicas, e, destes, metade apresentará doença típica. Nos RNs severamente afetados, a mortalidade pode chegar até 30%, e 90% poderão ter seqüelas graves, manifestando-se no período neonatal ou meses após. Os demais, 90%, serão assintomáticos. Desses, pelo menos 10 a 15% poderão apresentar anormalidades do desenvolvimento nos primeiros 2 anos de vida, como perda auditiva neurossensorial, coriorretinite, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e defeitos dentários (PASS, R.F.; *et al.*, 1980, DEMMLER, G.J., 1991).

Nos RNs sintomáticos, a apresentação típica caracteriza-se pelo envolvimento de múltiplos órgãos, em especial o SNC e o sistema retículo endotelial. A combinação de petéquias, hepatoesplenomegalia e icterícia é a mais freqüente. Parto prematuro e aborto também podem ocorrer. A gravidade do insulto pré-natal pode ser percebida pela presença de microcefalia, com ou sem calcificações cerebrais periventriculares, retardo de crescimento intra-uterino e prematuridade. Hérnia inguinal em meninos e coriorretinite são sintomas menos comuns. Pneumonite em RNs também é rara (apresenta-se em menos de 1% dos RNs com infecção congênita, sendo mais comum na infecção perinatal) (PASS, R.F.; *et al.*, 1980). Enterocolite necrosante é uma manifestação rara, mas já existem alguns relatos de associação (GAYTANT, M.A.; *et al.*, 2003).

Dentre os achados laboratoriais, os mais comuns, nesta ordem, são: IgM positiva em sangue de cordão, linfócitos atípicos ( $\geq 5\%$ ), aumento de TGO ( $>80\mu\text{U/ml}$ ), trombocitopenia ( $<100.000$  plaquetas/ $\text{mm}^3$ ), hiperbilirrubinemia direta ( $>2\text{mg/dl}$ ) e aumento de proteína no liquor ( $>120\text{mg/dl}$ ) (PASS, R.F.; *et al.*, 1980).

A surdez neurossensorial é a anormalidade de aparecimento tardio mais comum e pode ocorrer durante a primeira década de vida (STAGNO, S.; *et al.*, 1977). Um estudo pesquisou os fatores preditivos de surdez neurossensorial em RN com infecção congênita por CMV e estes foram doença disseminada ao nascimento e fatores isolados como petéquias e retardo de crescimento intra-uterino. A presença de alterações neurológicas ao nascimento (microcefalia, convulsão) não se associou a risco aumentado de surdez. É importante que todas as crianças sintomáticas ao nascimento sejam monitoradas para a detecção de surdez e para uma possível progressão e piora deste quadro, o que pode ocorrer em alguns casos (RIVERA, L.B.; *et al.*, 2002; YAMAMOTO, A.Y.; *et al.*, 1999). A infecção congênita por CMV já é considerada uma das principais causas de surdez neurossensorial, correspondendo a 1/3 dos casos e é indicação de rastreamento auditivo precoce (JOINT COMMITTEE ON INFANT HEARING 1994 POSITION STATEMENT, 1995; HICKS, T.; *et al.*, 1993). Tanto as crianças sintomáticas quanto as assintomáticas podem desenvolver surdez neurossensorial. Toda a criança com diagnóstico de infecção congênita por CMV deve ser submetida a audiometrias seriadas para rastreamento de perda auditiva (FOWLER, K.B.; *et al.*, 1997; FOWLER, K.B.; *et al.*, 1999).

Outras complicações tardias em crianças assintomáticas são microcefalia e retardo mental, que pode ocorrer em 2% das crianças assintomáticas até os 2 anos de idade. A coriorretinite pode ocorrer em 1% destes pacientes. Alterações dentárias, como descoloração, podem ocorrer tardiamente, sendo mais comum nas crianças sintomáticas (STAGNO, S.; *et al.*, 1983.). Há relatos de associação de CMV congênito e autismo (YAMASHITA, T.; *et al.*, 2003).

A infecção congênita pelo CMV caracteriza-se pela cronicidade e eliminação viral, podendo haver período de latência e exacerbações. O CMV induz a doença tardia que ainda não é bem entendida. O que provavelmente ocorre é uma replicação viral baixa e contínua em órgãos

importantes, que levará a dano mais tardiamente. Vasculite é outra possibilidade para explicar a progressão desta doença e o aparecimento de sintomas tardios (REVELLO, M.G. & GERNA, G., 1999).

O que leva uma infecção a ser mais grave que a outra ainda não é bem estabelecido, mas acredita-se que o tipo de infecção materna (primária ou recorrente), a idade fetal no momento da transmissão (quanto mais precoce a transmissão, maior a gravidade), fatores genéticos que controlam a resposta imunológica e diferenças na virulência, podem influenciar. Destes, apenas o tipo de infecção materna, quando primária, está associado a maior gravidade, apesar de que existem estudos que mostram que infecções recorrentes também causam sintomatologia muito grave. Em relação a seqüelas em RNs assintomáticos, parece não haver diferenças entre infecção primária e recorrente (CASTEELS, A.; *et al.*, 1999).

## **2.5 - PROGNÓSTICO**

Fatores associados a um pior prognóstico neurológico são microcefalia, coriorretinite, calcificações intra-cranianas e hidrocefalia. Na experiência de alguns autores, a infecção por CMV, na ausência de lesões cerebrais ou anormalidades biológicas severas, está associada com um bom prognóstico (AZAM, A.Z.; *et al.*, 2001).

Foi realizado um estudo que comparou se um tempo maior de excreção viral (na urina) estaria associado a uma maior sintomatologia e a maior prevalência de surdez neurosensorial. O tempo médio de excreção viral foi de 3.9 anos. O tempo de excreção viral nos pacientes assintomáticos foi maior que nos sintomáticos, mas esta diferença não foi significativa. O uso de Ganciclovir não modificou o tempo de excreção viral (houve redução durante o período de uso,

mas o tempo total foi o mesmo). Em relação à surdez neurossensorial, a excreção viral foi menos prolongada nas crianças que desenvolveram surdez. Uma possível explicação para isso seria que os fatores associados com a redução da excreção viral (como a resposta imunológica do paciente), poderiam estar associados com um maior dano ao ouvido interno. Um aspecto importante deste estudo é o impacto em termos de saúde pública, já que esta excreção viral prolongada em crianças assintomáticas pode levar à contaminação de gestantes e fetos (NOYOLA, D.E.; *et al.*, 2000).

## **2.6 – TRATAMENTO**

Apesar de medicações específicas contra o CMV, como o Foscarnet e o Ganciclovir, serem utilizados em infecções graves nos pacientes adultos imunodeprimidos, ainda há poucos dados que sustentem o seu uso em RNs.

Dois tipos de tratamento podem ser considerados: pré-natal (intra-útero) ou pós-natal (no RN, baseado na severidade dos sintomas). O Foscarnet é um competidor do pirofosfato, enquanto o Ganciclovir é competidor da guanosina durante a síntese do DNA. No entanto, o grau de toxicidade destas medicações deve ser considerado, principalmente a nível renal para o Foscarnet (alterações no débito urinário) e hematológico (neutropenia) para o Ganciclovir. Estudos sobre o uso de Ganciclovir no período pré-natal não mostraram a efetividade da medicação. Os níveis de viremia caíram durante o seu uso, mas não houve modificação no curso da doença fetal, pois os RNs apresentavam sintomatologia e/ou níveis detectáveis do vírus ao nascer (REVELLO, M.G.; *et al.*, 1993).

Em relação ao tratamento pós-natal, alguns estudos vêm sendo realizados no RN sintomático. Os estudos iniciais não foram muito encorajadores, pois mostraram uma redução temporária da excreção viral, com novo aumento alguns dias após o término do tratamento (STRONATI, M; *et al.*, 1995).

Por outro lado, estudos mais controlados e relatos de casos isolados em RNs sintomáticos vêm mostrando uma redução da excreção de carga viral e diminuição dos casos de surdez (VAZ, F.A.& DINIZ, E.M.; 2002, WHITLEY, R.J.; *et al.*, 1996, ZHOU, X.J.; *et al.*, 1996). Os principais efeitos adversos que levam à suspensão da medicação são neutropenia e aumento de enzimas hepáticas. O tratamento deve ser considerado em crianças com doença de SNC, com ou sem calcificação intracraniana, uma vez que benefícios na audição foram vistos nestas crianças (CROWLEY, B.; *et al.*, 2002). O estudo mais controlado e respeitado atualmente, realizado pelo “Collaborative Antiviral Study Group (CASG) of the national Institute of Allergy and Infectious Disease”, concluiu que o tratamento com Ganciclovir endovenoso por 6 semanas (6mg/kg/dose de 12/12 horas) deve ser considerado em pacientes com infecção congênita por CMV sintomática envolvendo o SNC por prevenir deterioração da audição nos primeiros 6 meses de vida e, provavelmente, após o primeiro ano. Durante o tratamento, os pacientes devem ser monitorados para o desenvolvimento de neutropenia (KIMBERLIN, D.W.; *et al.*, 2003). Ainda não há estudos conclusivos quanto ao uso desta medicação em pacientes assintomáticos, nem quanto ao uso de sua forma oral (Valganciclovir) em crianças. Em adultos, já existem estudos mostrando a eficácia do Valganciclovir (MARTIN, D.F.; *et al.*, 2002).

Outro objetivo da terapia antiviral seria tratar mães com infecção primária diagnosticadas no pré-natal, evitando sua transmissão ao feto. Neste caso, o uso de gamaglobulina e medicações antivirais em doses mais baixas seriam opções a serem estudadas para o futuro. Para isso, o

diagnóstico materno no pré-natal torna-se de extrema importância. Existe um relato de caso de mãe HIV positivo que desenvolveu retinite e pneumonite por CMV durante a gestação. A gestante recebeu Ganciclovir endovenoso (5mg/kg de 12/12 hrs) até o final da gestação (30 a 34 semanas). Apesar de ter ocorrido passagem transplacentária do vírus, o bebê nasceu assintomático. Houve passagem do Ganciclovir usado pela mãe para o RN. Nos primeiros exames não houve detecção do vírus. Após 20 dias este foi detectado na urina. A criança recebeu alta hospitalar em boas condições (BRADY, R.C.; *et al.*, 2002). Por se tratar de um relato de caso, novos estudos ainda são necessários.

Como ainda não há um consenso em relação ao tratamento medicamentoso, principalmente no paciente assintomático, tornam-se importantes outras medidas, como, por exemplo, o reconhecimento e acompanhamento precoce da surdez neurossensorial, proporcionando um bom desenvolvimento da linguagem e comunicação, o que é uma importante medida a nível de saúde pública.

## **2.7 – PREVENÇÃO**

Por ser uma das principais causas de retardo mental na criança, a infecção congênita por CMV é considerada uma prioridade a ser erradicada da população humana através de vacinação. A vacina seria uma das principais formas de profilaxia. O objetivo seria a vacinação de todas as mulheres soronegativas em idade fértil, já que a infecção primária é responsável pelos casos com sintomatologia mais grave. Vários tipos de vacinas estão sendo estudados no momento. Baseado em um estudo que mostrou redução do risco de infecção congênita por CMV em mulheres com imunidade prévia, acredita-se que uma vacina que imitasse esta imunidade naturalmente



adquirida poderia reduzir a taxa de transmissão em torno de 70% ou mais (FOWLER, K.B.; *et al.*, 2003; PLOTKIN, S.A., 2003).

O rastreamento universal para diagnóstico de infecção por CMV é tema de debate. Nenhum país inclui sorologia para CMV como exame de rotina no pré-natal. No entanto, as gestantes têm o direito de serem informadas em relação a esta infecção. Cabe aos profissionais de saúde uma melhor orientação neste sentido. A população alvo deveria ser mulheres em idade fértil. A dosagem de IgG nestas mulheres seria um exame barato e eficaz. Se positivas, não necessitariam a repetição do exame; se negativas, seriam orientadas quanto à doença, a medidas preventivas e acompanhadas, no caso de gestação.

Em relação ao rastreamento da infecção no RN, o custo para a realização de um teste de PCR seria em torno de 13 U\$, totalizando gastos com material para coleta de amostra, reagentes e recursos humanos para a realização do teste. Assim, considerando a prevalência de infecção congênita por CMV, o custo por caso identificado seria quase 20 vezes inferior ao valor estimado por caso identificado de hipotireoidismo congênito, considerando uma prevalência desta doença de 1: 6000 nascidos vivos (YAMAMOTO, A.Y.; *et al.*, 1999). Já há relatos recentes de utilização dos cartões do Teste do Pezinho para a detecção de DNA do CMV, com uma sensibilidade de 100% e especificidade de 99% (GAYTANT, M.A.; *et al.*, 2003).

Assim, um rastreamento ao nascimento possibilitaria o diagnóstico precoce de infecção congênita por CMV. Dessa forma, seria possível conhecer a dimensão real dessa infecção em nosso meio, identificando crianças de risco para seqüelas auditivas e neurológicas, bem como definindo benefícios da terapia antiviral em casos selecionados.

## **OBJETIVO**

### **3 – OBJETIVO**

#### **3.1 – OBJETIVO GERAL**

- Determinar a prevalência da infecção congênita por citomegalovírus em recém-nascidos da Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

## **PACIENTES E MÉTODOS**

## **4 – PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 – DELINEAMENTO DA PESQUISA**

Foi realizado um estudo transversal de prevalência. O fator em estudo foi constituído por todos os recém-nascidos que internaram na UTIN do HCPA durante o período do estudo. O desfecho clínico foi infecção por CMV.

### **4.2 – POPULAÇÃO**

A prevalência da infecção congênita por CMV na população geral é de 0,2 a 2,2% (STAGNO, S.; *et al.*, 1983). Em uma UTI neonatal encontrou-se uma prevalência de até 6,8% (SANTOS, D.V.; *et al.*, 2000). Para uma margem de erro de 3% para mais ou menos e um intervalo de confiança de 95%, 241 pacientes seriam necessários para a realização deste estudo. Foram elegíveis para o estudo 261 pacientes que nasceram no HCPA e internaram na UTIN no período de 05/05/2003 a 04/12/2003. Destes, 10 pacientes foram excluídos (transfusão sanguínea, ausência de consentimento informado, alta precoce da UTIN, óbito antes da coleta do exame) e 1 teve amostra de urina perdida. Assim, excluindo-se estas perdas, entraram no estudo 250 pacientes.

### **4.3 – AMOSTRA**

Foram elegíveis para o estudo todos os RNs que nasceram no HCPA e internaram na UTIN do HCPA durante o período do estudo, com até 7 dias de vida.

Pacientes com ausência de consentimento dos pais ou que receberam transfusão de componentes sanguíneos foram excluídos.

Pacientes externos não foram aceitos no estudo para evitar erro de seleção, já que o HCPA é um hospital de referência e um maior número de casos de RNs com infecção congênita poderia ser encaminhado para o mesmo, aumentando a real prevalência.

### **4.4 – LOGÍSTICA**

Foram testadas 250 urinas de pacientes que internaram na UTIN no período de 05/05/2003 a 04/12/2003.

Uma alíquota de urina, de todo RN que participou do estudo, foi obtida através de saco coletor, sob condições assépticas e enviada para o Serviço de Patologia Clínica (Unidade de Microbiologia) do HCPA. Nesta amostra de urina foi pesquisado o DNA viral pela técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR), sendo considerados infectados todos os RNs com positividade no exame que foi realizado em duplicata. Foi empregada uma metodologia de PCR “in-house” desenvolvida e utilizada em diagnósticos no Serviço de Patologia Clínica do HCPA e validada pelo serviço através da comparação com a cultura viral na urina.

A detecção do CMV é baseada na amplificação de uma sequência de DNA específica do gene da glicoproteína B deste vírus, usando a técnica de PCR dupla (Nested-PCR). O PCR

duplo emprega duas reações de amplificação com dois pares de “primers” diferentes (externo e interno) para o mesmo genoma, resultando num método mais sensível e específico.

As reações de PCR contém 16 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 67 mM Tris-HCL (pH 8,8 à 25 °C), 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,01% (w/v) de Tween-20 (tampão de PCR, Advanced Biotechnologies), 0,25 mM de cada deoxinucleotideo trifosfato (Advanced Biotechnologies Ltd.), 0,1  $\mu\text{M}$  de cada primer específico (Read SJ e cols, 1977) (R&D Systems Ltd.) e 0,625 unidades de Taq polimerase (Advanced Biotechnologies Ltd.).

Para a purificação do material genético da amostra utilizou-se 140  $\mu\text{l}$  de urina empregando o kit Qiagen QIAamp, conforme especificações do fabricante. Na reação de PCR foram utilizados dez microlitros do DNA extraído para a primeira amplificação, que totalizou um volume final de reação de 50  $\mu\text{l}$ . A amplificação com “primers” internos aconteceu em mistura idêntica à anterior, excetuando-se que o volume total foi de 25  $\mu\text{l}$  e que 2  $\mu\text{l}$  da primeira reação foi adicionado como amostra. As duas etapas de amplificações foram realizadas em termociclador Techne (Flexigene®). Diluições de cultura de CMV foram usadas como controle positivo. Foram empregados procedimentos para eliminar e controlar a possibilidade de contaminações, como o uso de ponteiras com filtros de barreira, quatro ambientes distintos para as diversas etapas, além do uso de controles negativos em cada amplificação. Todas as amostras foram testadas em duplicata.

A amplificação da primeira reação de PCR é executada nas seguintes condições: uma desnaturação inicial de 1 minuto e 40 segundos a 94°C seguida de 33 ciclos de 20 segundos a 94°C para desnaturação, 20 segundos a 50 °C para anelamento, 20 segundos a 72°C para extensão.

A amplificação da segunda reação de PCR é executada nas seguintes condições: uma desnaturação inicial de 45 segundos a 94° C seguida de 33 ciclos de 20 segundos a 94°C para desnaturação, 20 segundos a 50°C para o anelamento e 30 segundos a 72°C para extensão

Os produtos de amplificação foram detectados por eletroforese, utilizando-se 10 µl da segunda reação de PCR em gel de agarose a 2%, contendo 0,5 µg/ml de brometo de etídio. As bandas de DNA foram visualizadas no gel, por meio de transiluminador com luz ultravioleta. A execução dos testes levou em média 6 horas. (READ, S.J.; *et al.*, 1977).

O familiar responsável respondeu a um questionário, para podermos caracterizar a população estudada e associar possíveis fatores de risco à infecção (anexo 1).

#### **4.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foi realizado o cálculo de prevalência com intervalo de confiança de 95%.

Para caracterizar os pacientes estudados foi utilizada a análise descritiva simples e média.

O banco de dados foi criado em Excel e a análise de dados foi feita através do programa SPSS versão 12.0.

Não foi possível relacionar fatores associados devido ao pequeno número de pacientes com teste positivo.

#### **4.6 - CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**



A pesquisa foi submetida à avaliação da Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que aprovou o estudo.

A identidade dos bebês não foi exposta.

O teste usado para diagnóstico (coleta de urina por saco coletor) não é um exame invasivo, não acarretando nenhum prejuízo para o bebê.

Os pais ou familiares responsáveis foram devidamente informados e orientados conforme formulário de consentimento pós-informação (anexo 2).

Não foram admitidos no estudo RNs sem o consentimento dos pais ou de responsáveis legais.

## **BIBLIOGRAFIA**

## 5. BIBLIOGRAFIA

AZAM, A.Z.; VIAL, I.; FAWER, C.L.; et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. **Obstet Gynecol** 2001; 97: 443-448.

BALCAREK, K.B.; WARREN, W.; SMITH, R.J.; et al. Neonatal Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection by Detection of Virus in Saliva. **J Infect Dis** 1993; 167: 1433-1436.

BOPPANA, S.B.; PASS, R.F.; BRITT, W.J.; et al. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: Neonatal morbidity and mortality. **Pediatr Infect Dis J** 1992; 11: 93-99.

BOPPANA, S.B.; RIVERA, L.B.; FOWLER, K.B.; et al. Intrauterine Transmission of Cytomegalovirus to Infants of Women with Preconceptional Immunity. **N Engl J Med** 2001; 344(18): 1366-1371.

BRADY, R.C.; SCHLEISS, M.R.; WITTE, D.P.; et al. Placental Transfer of Ganciclovir in a Woman with Acquired Immunodeficiency Syndrome and Cytomegalovirus Disease. **Pediatr Infect Dis J** 2002; 21 (8): 797-798.

BRYTTING, M.; XU, W.; WAHREN, B.; SUNDQVIST, V.A. Cytomegalovirus DNA detection in sera samples from patients with active cytomegalovirus infections. **J Clin Microbiol** 1992; 30:1937–1941.

CASTEELS, A.; NAESSENS, A.; GORDTS, F.; et al. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infections. **J Perinat Med** 1999; 27: 116-121.

CONBOY, T.; PASS, R.F.; STAGNO, S.; et al. Early clinical manifestations and intellectual outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. **J Pediatr** 1987; 111: 343-348.

CROWLEY, B. Ganciclovir treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus Cytomegalovirus Infections. **J Antimicrob Chemother** 2002; 50: 435-436.

DEMMLER, G.J. Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection: a Tapestry of Controversies. **J Pediatr** 2005; 146: 162-164.

DEMMLER, G.J. Summary of a workshop on surveillance for congenital cytomegalovirus disease. **Rev Infect Dis** 1991; 13: 315-329.

DWORSKY, M.E.; WELCH, K.; CASSADY, G.; STAGNO, S. Occupational risk for primary cytomegalovirus infection among pediatric health care workers. **N Engl J Med** 1983; 309: 950-953.

EBERHARDT, M.S.; INGRAM, D.D.; MAKUC, D.M.; et al. Urban and rural health chartbook. Health, United States, 2001. Hyattsville, Md.: National Center for Health Statistics, 2001.

FOWLER, K. B.; STAGNO, S.; PASS, R.F.; et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. **N Engl J Med** 1982; 326:663–667.

FOWLER, K.B.; DABLE, A.J.; BOPPANA, S.B.; PASS, R.F. Newborn hearing screening: Will children with hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection be missed? **J Pediatr** 1999; 135: 60-64.

FOWLER, K.B.; McCOLLISTER, F.P.; DAHLE, A.J.; et al. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. **J Pediatr** 1997; 30: 624-630.

FOWLER, K.B.; STAGNO, S.; PASS, R.F. Maternal Immunity and Prevention of Congenital Cytomegalovirus Infection. **JAMA** 2003; 289: 1008-1011.

GAYTANT, M.A.; ROURS, I.J.; STEEGERS, E.A.; et al. Congenital cytomegalovirus infection after recurrent infection: case reports and review of the literature. **Eur J Pediatr** 2003; 162: 248-253.

GAYTANT, M.A.; STEEGERS, E.A.; SEMMEKROT, B.A.; et al. Congenital Cytomegalovirus Infection: Review of the Epidemiology and Outcome. **Obstet Gynecol Surv** 2002; 57 (4): 245-256.

GERDAY, E.; GROSE, C. Demographic Differences in Congenital Cytomegalovirus Infection in the United States. **J Pediatr** 2004; 145: 435-6.

GROSE, C.; ITANI, O; WEINER, C.P. Prenatal diagnosis of fetal infection: advances from amniocentesis to cordocentesis—congenital toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus, varicella virus, parvovirus and human immunodeficiency virus. **Pediatr Infect Dis J** 1989; 8:459–468.

GROSE, C.; MEEHAN, T.; WEINER, C.P. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection by virus isolation after amniocentesis. **Pediatr Infect Dis J** 1992; 11:605–607.

GROSE, C.; WEINER, C.P. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: two decades later. **Am J Obstet Gynecol** 1990; 163:447–450.

GUERINA, N.G.; HSU, H.W.; MEISSNER, H.C.; et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. **N Engl J Med** 1994; 330: 1858-1863.

GUERRA, B.; LAZZAROTTO, T; QUARTA, S.; et al. Prenatal diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. **Am J Obstet Gynecol** 2000; 183: 476-482.

HANSHAW, J.B. On deafness, cytomegalovirus, and neonatal screening. **Am J Dis Child** 1982; 136: 886-887.

HARRIS, S.; AHLFORS, K.; IVARSSON, S.; et al. Congenital cytomegalovirus infection and sensorineural hearing loss. **Ear Hear** 1984; 5: 352-355.

HICKS, T.; FOWLER, K.; RICHARDSON, M.; et al. Congenital cytomegalovirus infection and neonatal auditory screening. **J Pediatr** 1993; 23:779-782.

Joint Committee on Infant Hearing 1994 Position Statement. **Pediatrics** 1995; 95(1): 152-156.

JONES, R.N.; NEALE, M.L.; BEATTIE, B.; et al. Development and Application of a PCR-Based Method Including an Internal Control for Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. **J Clin Microbiol** 2000; 38 (1): 1-6.

KIMBERLIN, D.W.; LIN, C.Y.; SANCHEZ, P.J.; et al. Effect of Ganciclovir Therapy on Hearing in Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Disease Involving the Central Nervous System: a Randomized, Controlled Trial. **J Pediatr** 2003; 143: 16-25.

LAZZAROTTO, T.; VARANI, S.; GABRIELLI, L.; et al. New Advances in the Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. **Intervirology** 1999; 42: 390-397.

LAZZAROTTO, T.; VARANI, S.; GUERRA, B.; et al. Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection. **J Pediatr** 2000; 137: 90-95.

LIESNARD, C.; DONNER, C.; BRANCART, F.; et al. Prenatal Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection: Prospective Study of 237 Pregnancies at Risk. **Obstet Gynecol** 2000; 95:881-888.

LUCHSINGER, V.F.; SUÁREZ, M.G.; SCHULTZ, R.A.; et al. Incidencia de infección congênita por citomegalovirus en recién nacidos de distinta condición socioeconomica. **Rev Méd Chile** 1996; 124: 403-408.

MALINGER, G.; LEV, D.; ZAHALKA, N.; et al. Fetal Cytomegalovirus Infection of the Brain: The Spectrum of Sonographic Findings. **Am J Neuroradiol** 2003; 24: 28-32.

MARTIN, D.F.; SIERRA-MADERO, J.; WALMSLEY, S.; et al. A Controlled Trial of Valganciclovir as Induction Therapy for Cytomegalovirus Retinitis. **N Engl J Med** 2002; 346: 1119-26.

MODLIN, J.F.; GRANT, P.E.; MAKAR, R.S.; et al. Case 25-2003: A Newborn Boy with Petechiae and Trombocytopenia. **N Engl J Med** 2003; 349: 691-699.



NAESSENS, A.; CASTEELS, A.; DECATTE, L.; FOULON, W. A Serologic Strategy for Detecting Neonates at Risk for Congenital Cytomegalovirus Infection. **J Pediatr** 2005; 146: 194-197.

NELSON, C. T.; ISTAS, A.S.; WILKERSON, M.K.; DEMMLER, G.J. PCR detection of cytomegalovirus DNA in serum as a diagnostic test for congenital cytomegalovirus infection. **J Clin Microbiol** 1995; 33: 3317–3318.

NOYOLA, D.E.; DEMMKER, G.J.; WILLIAMSON, W.D.; et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. **Pediatr Infect Dis J** 2000; 19: 505-510.

NOYOLA, D.E.; ELIZONDO, A.R.; LIMA, J.M.; et al. Congenital Cytomegalovirus Infection in San Luis Potosi, Mexico. **Pediatr Infect Dis J** 2003; 2: 89-90.

PASS, R.F., STAGNO, S., MYERS, G.J., ALFORD, C.A. Outcome of symptomatic congenital CMV infection : Results of long-term longitudinal follow-up. **Pediatrics** 1980; 66: 758-762.

PECKHAM, C.S. Cytomegalovirus infection: Congenital and neonatal disease. **Scand J Infect Suppl** 1991; 80: 82-87.

PINHATA, M.M.; YAMAMOTO, A.Y.; FIGUEIREDO, L.T.; et al. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection in infants Born to mothers infected with human immunodeficiency virus. **J Pediatr** 1998; 32: 285-290.

PLOTKIN, S.A. Natural vs Vaccine-Acquired Immunity to Cytomegalovirus. **JAMA** 2003; 290: 1709 (letter).

READ, S.J.; JEFFERY, K.J.M.; BANGHAM, C.R.M. Aseptic Meningitis and Encephalitis: the Role of PCR in the Diagnostic Laboratory. **J Clin Microbiol**, 1977; 35(3); 691-6.

REVELLO, M. G.; PERCIVALLE, E.; BALDANTI, F.; et al. Prenatal treatment of congenital human cytomegalovirus infection by fetal intravascular administration of ganciclovir. **Clin. Diagn. Virol.** 1993; 1: 61-67.

REVELLO, M. G.; ZAVATTONI, M.; BALDANTI, F.; et al. Diagnostic and prognostic value of human cytomegalovirus load and IgM antibody in blood of congenitally infected newborns. **J Clin Virol** 1999; 14:57–66.

REVELLO, M. G.; ZAVATTONI, M.; SARASINI, A.; et al. Prenatal diagnostic and prognostic value of human cytomegalovirus load and IgM antibody response in blood of congenitally infected fetuses. **J Infect Dis** 1999; 180:1320–1323.

REVELLO, M.G., GERNA, G. Diagnosis and implications of human cytomegalovirus infection in pregnancy. **Fet Matern Med Rev** 1999; 11: 117-134.

REVELLO, M.G.; GERNA, G. Diagnosis and Management of Human Cytomegalovirus Infection in the Mother, Fetus and Newborn Infant. **Clin Microbiol Rev** 2002; 15: 680-715.

REYES, M.P.; HUNT, N.; OSTREA, E.M.; GEORGE, D. Maternal/congenital syphilis in a large tertiary-care urban hospital. **Clin Infect Dis** 1993; 17: 1041-1046.

RIVERA, L.B.; BOPPANA, S.B.; FOWLER, K.B.; et al. Predictors of Hearing Loss in Children With Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. **Pediatrics** 2002; 110: 762-767.

SANTOS, D.V.; SOUZA, M.M.; GONÇALVES, S.H.; et al. Congenital Cytomegalovirus Infection in a Neonatal Intensive Care Unit in Brazil Evaluated by PCR and Association with Perinatal Aspects. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo** 2000; 42 (3): 129-132.

SCHLESINGER, Y.; HALLE, A.I.; EIDELMAN, D.; et al. Urine polymerase chain reaction as a screening tool for the detection of congenital cytomegalovirus infection. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed** 2003; 88: F371-F374.

SHOBY, C.T.; SOLOMAN, R.; KURUVILLA, K.A.; et al. Human Cytomegalovirus Perinatal Infections in a Tertiary Care Setting. **Indian Pediatrics** 2002; 39: 561-564.

STAGNO, S. Cytomegalovirus, p. 389–424. *In* J. S. Remington and J. O. Klein (ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa, 2001.

STAGNO, S.; PASS, R. F. ; DWORSKY, M. E. ; ALFORD, C.A.. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. **Clin Obstet Gynecol** 1982; 25:563–576.

STAGNO, S.; PASS, R.F.; CLOUD, G.; et al. Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. **JAMA** 1986; 256: 1904-1908.

STAGNO, S.; PASS, R.F.; DWORSKI, M.E.; ALFORD, C.A. Congenital and Perinatal Cytomegalovirus infections. **Sem Perinatol** 1983; 7: 31-42.

STAGNO, S.; REYNOLDS, D.W.; AMOS, C.S.; et al. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegalovirus and toxoplasma infections. **Pediatrics** 1977; 59: 669.

STAGNO, S.; REYNOLDS, D.W.; PASS, R.F.; et al. Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection. **N Engl J Med** 1980; 302: 1073-1076.

STRONATI, M.; REVELLO, M.G.; CERBO, R.M.; FURIONE, M.; RONDINI, G.; GERNA, G. Ganciclovir therapy of congenital human cytomegalovirus hepatitis. **Acta Paediatr.** 1995; 84:340–341.

TRANG, J.M.; KIDD, L.K.; GRUBER, W.; et al. Linear single-dose pharmacokinetics of ganciclovir in newborns with congenital cytomegalovirus infections. **Clin Pharmacol Ther** 1993; 53: 15-21.

VAZ, F.A.; DINIZ, E.M. Hidropsia Fetal em Recém-Nascido com Citomegalia Congênita. **Ver Assoc Med Bras** 2002; 48(4): 295.

WELLER, T.H.; HANSHAW, J.B. Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease. **N Engl J Med** 1962; 266: 1233-1244.

WHITLEY, R.J.; CLOUD, G.; GRUBER, W.; et al. Ganciclovir Treatment of Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection: Results of a Phase II Study. **J Infect Dis** 1996; 175: 1080-1086.

WILLIAMSON, W.D., DESMOND, M.N.; LA FEVERS, N.; et al. Symptomatic congenital cytomegalovirus. Disorders of language, learning, and hearing. **Am J Dis Child** 1982; 136: 902-905.

XU, W.; SUNDQVIST, A.; BRYTTING, M.; LINDE, A. Diagnosis of cytomegalovirus infections using polymerase chain reaction, virus isolation and serology. **Scand J Infect Dis** 1993; 25: 311-316.

YAMAMOTO, A.Y., FIGUEIREDO, L.T., MUSSI-PINHATA, M.M. Prevalência e aspectos clínicos da infecção congênita por citomegalovírus. **Jornal de Pediatria** 1999; 75 (1): 23-28.

YAMAMOTO, A.Y.; AQUINO, V.H.; FIGUEIREDO, L.T.M.; MUSSI-PINHATA, M.M.  
Diagnosis of congenital and perinatal cytomegalovirus infection by using the polimerase chain reaction. **Rev Soc Bras Med Trop** 1998; 31: 19-26.

YAMAMOTO, A.Y.; MUSSI-PINHATA, M.M.; PINTO, P.C.; et al. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. **Pediatr Infect Dis J** 2001; 20(2): 188-192.

YAMASHITA, Y.; FUJIMOTO, C.; NAKAJIMA, E.; et al. Possible association between congenital cytomegalovirus infection and autistic disorder. **J Autism Dev Disord** 2003; 33 (4): 455-459.

ZHOU, X.J.; GRUBER, W.; DEMMLER, G.; et al. Population Pharmacokinetics of Ganciclovir in Newborns with Congenital Cytomegalovirus Infections. **Antimicrob Agents Chemoter** 1996; 40 (9): 2202-2205.

**ARTIGO**

## RESUMO

**Palavras-Chave:** citomegalovírus, citomegalovírus congênito, reação em cadeia da polimerase, recém-nascido

**Objetivo:** Determinar a prevalência da infecção congênita por citomegalovírus em recém-nascidos internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal de um hospital público de Porto Alegre.

**Métodos:** Estudo transversal, incluindo 261 recém-nascidos que nasceram num hospital público da cidade de Porto Alegre no ano de 2003 e internaram na UTIN. Foi coletada amostra de urina nos primeiros 7 dias de vida e realizado o teste de Reação em Cadeia da Polimerase-PCR para a pesquisa do DNA do citomegalovírus.

**Resultados:** A prevalência de infecção congênita por CMV na população estudada foi de 0,8% (IC 95%: 0,097% - 2,86%). Devido à baixa prevalência, não foi possível associar fatores de risco.

**Conclusões:** A prevalência de infecção congênita por citomegalovírus em uma UTI neonatal de um hospital público de Porto Alegre não foi considerada elevada, sendo semelhante à prevalência encontrada na maioria dos estudos realizados.



## ABSTRACT

**Keywords:** cytomegalovirus, congenital cytomegalovirus infections, polymerase chain reaction, newborn

**Objective:** To determine the prevalence of cytomegalovirus congenital infection in newborns of the Neonatal Intensive Care Center of a public hospital from Porto Alegre city.

**Methods:** Transversal study of prevalence, including 261 newborns of the Neonatal Intensive Care Center of a public hospital of the city Porto Alegre during the year 2003. For each newborn that entered in the study, an urine sample was obtained in the first week of life and processed according a PCR protocol. The study happened between May and December of 2003.

**Results:** The prevalence of cytomegalovirus congenital infection in the studied population was 0,8% (CI 95%: 0,097% - 2,86%). It was not possible to associate risk factors for the infection since the number of patients with positive test was low.

**Conclusion:** The prevalence of cytomegalovirus congenital infection in the NICU of a public hospital from Porto Alegre was not considered high and was similar to the others studies.

## INTRODUÇÃO

O citomegalovírus (CMV) pertence à família dos herpesvírus e é causa freqüente de infecção nos seres humanos. Este vírus sofre períodos de ativação e latência e uma vez que a mulher é infectada, o vírus permanece indefinidamente no corpo do hospedeiro, podendo haver uma reativação a qualquer momento (1).

A transmissão fetal ocorre durante a gestação, por via transplacentária. Quanto mais precoce a transmissão da infecção da mãe para o feto, pior é o prognóstico e maior a chance de mal-formações (MFs) graves. A infecção materna pode ser primária (em mulheres que nunca tiveram a infecção) ou recorrente (por reativação viral ou reinfeção por outras cepas virais) (2). Quando a infecção é primária, a chance de transmissão para o feto e da existência de seqüelas mais graves é maior.

Dentre os recém-nascidos (RNs) infectados, 10% serão sintomáticos. Neste grupo, a mortalidade pode chegar a até 30%, e 90% poderão ter seqüelas graves (3). As principais características da infecção sintomática são petéquias, hepatoesplenomegalia, icterícia, microcefalia, retardo de crescimento intra-uterino, prematuridade, calcificações cerebrais periventriculares, aborto, hérnia inguinal, coriorretinite (4). Nos RNs assintomáticos, 10 a 15% poderão apresentar manifestações clínicas tardias, como surdez, retardo mental e coriorretinite, sendo que estas podem ocorrer ao longo dos dois primeiros anos de vida (5,6).

O diagnóstico é estabelecido pelo isolamento do vírus através da cultura viral. O local preferencial é a amostra urinária porque na urina o CMV se encontra em elevados títulos. A técnica de cultura tecidual viral é considerada padrão-ouro e leva 2 a 6 semanas para a replicação e identificação. O método de identificação do DNA viral pelo método da Reação em Cadeia da

Polimerase (“*polymerase chain reaction*”) (PCR) tem também alta sensibilidade e especificidade. O método de PCR apresenta algumas vantagens, que são resultados mais rápidos (em 24 a 48 horas), menor quantidade de amostra necessária para o teste e possibilidade de congelamento e armazenamento das amostras coletadas (7).

A infecção congênita por CMV é atualmente a infecção intra-uterina mais comum em todo o mundo, tendo uma prevalência de 0,2 a 2,2%. Além disso, é a principal causa infecciosa de malformações (MFs) do sistema nervoso central (SNC) e a principal causa de surdez e dificuldade de aprendizado na infância, tendo um impacto social muito grande (8,9). Em populações selecionadas, como em recém-nascidos (RNs) de uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), esta prevalência pode ser ainda maior, principalmente porque os RNs gravemente enfermos têm associação com fatores de risco. Vários estudos associam mãe adolescente, raça negra, atividade sexual com múltiplos parceiros, estado civil solteira, multiparidade, baixa condição socioeconômica e contato com fontes de CMV (em creches, por exemplo) com um maior risco de infecção congênita (2,10).

A prevalência desta infecção em nosso meio ainda não é conhecida. Existem alguns trabalhos realizados no Brasil onde a prevalência variou, conforme a população estudada, entre 0,39 e 6,8% (11,12,13,14).59b

O diagnóstico precoce desta infecção se torna importante tanto para intervenção terapêutica, minimizando morbidade e mortalidade nos RNs sintomáticos, quanto para a determinação de risco de seqüelas futuras nos RNs assintomáticos (15).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a prevalência da infecção congênita por CMV em RNs da UTI de um hospital público de Porto Alegre.

## PACIENTES E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal de prevalência, envolvendo todos os RNs que nasceram e internaram na UTI neonatal (UTIN) de um hospital público de Porto Alegre entre maio e dezembro de 2003. O tamanho da amostra baseou-se em um estudo onde a prevalência desta infecção em uma UTI neonatal foi de 6,8%(13). Realizou-se um cálculo amostral no programa Epi-Info 6.0, no qual, para um intervalo de confiança de 95% e uma margem de erro de 3%, seriam necessários 241 pacientes. O estudo foi realizado no período de 05/05/2003 a 04/12/2003. Toda a criança nascida neste hospital e que internou na UTIN foi elegível para o estudo. Pacientes externos não entraram no estudo para evitar vício de amostra, pois o hospital em estudo é um hospital de referência para infecções congênitas.

Uma alíquota de urina, de todo RN que participou do estudo, foi obtida através de saco coletor, sob condições assépticas, na primeira semana de vida, e enviada para o Serviço de Patologia Clínica (Unidade de Microbiologia), onde foi armazenada em *freezer* até seu processamento. Nesta amostra de urina foi pesquisado o DNA viral pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo considerados infectados todos os RNs com positividade no exame que foi realizado em duplicata. Foi empregada uma metodologia de PCR “in-house”, desenvolvida e utilizada em diagnósticos no Serviço de Patologia Clínica do hospital em estudo e validada pelo serviço através da comparação com a cultura viral na urina (padrão ouro).

A detecção do CMV é baseada na amplificação de uma seqüência de DNA específica do gene da glicoproteína B deste vírus, usando a técnica de PCR dupla (Nested-PCR). O PCR duplo emprega duas reações de amplificação com dois pares de “primers” diferentes (externo e interno) para o mesmo genoma, resultando num método mais sensível e específico.

As reações de PCR contém 16 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 67 mM Tris-HCL (pH 8,8 à 25 °C), 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,01% (w/v) de Tween-20 (tampão de PCR, Advanced Biotechnologies), 0,25 mM de cada deoxinucleotideo trifosfato (Advanced Biotechnologies Ltd.), 0,1  $\mu\text{M}$  de cada primer específico (R&D Systems Ltd.) e 0,625 unidades de Taq polimerase (Advanced Biotechnologies Ltd.). Para a purificação do material genético da amostra utilizou-se 140  $\mu\text{l}$  de urina empregando o kit Qiagen QIAamp, conforme especificações do fabricante. Na reação de PCR foram utilizados 10  $\mu\text{l}$  do DNA extraído para a primeira amplificação, que totalizou um volume final de reação de 50  $\mu\text{l}$ . A amplificação com “primers” internos aconteceu em mistura idêntica à anterior, excetuando-se o fato de que o volume total foi de 25  $\mu\text{l}$  e que 2  $\mu\text{l}$  da primeira reação foram adicionados como amostra. As duas etapas de ampliações foram realizadas em termociclador Techne (Flexigene®). Diluições de cultura de CMV foram usadas como controle positivo. Foram empregados procedimentos para eliminar e controlar a possibilidade de contaminações, como o uso de ponteiros com filtros de barreira, quatro ambientes distintos para as diversas etapas, além do uso de controles negativos em cada amplificação. Todas as amostras foram testadas em duplicata. A amplificação da primeira reação de PCR foi executada nas seguintes condições: uma desnaturação inicial de 1 minuto e 40 segundos a 94°C, seguida de 33 ciclos de 20 segundos a 94°C, para desnaturação, 20 segundos a 50 °C para anelamento, 20 segundos a 72°C para extensão. A amplificação da segunda reação de PCR foi executada nas seguintes condições: uma desnaturação inicial de 45 segundos a 94° C seguida de 33 ciclos de 20 segundos a 94°C para desnaturação, 20 segundos a 50°C para o anelamento e 30 segundos a 72°C para extensão. Os produtos de amplificação foram detectados por eletroforese, utilizando-se 10  $\mu\text{l}$  da segunda reação de PCR em gel de agarose a 2%, contendo 0,5  $\mu\text{g/ml}$  de brometo de

etídio. As bandas de DNA foram visualizadas no gel, por meio de transiluminador com luz ultravioleta. A execução dos testes levou em média 6 horas (16).

O banco de dados foi criado em Excel e a análise de dados foi feita através do programa SPSS versão 12.0.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de nossa instituição e em todos os casos foi obtido consentimento informado do responsável.

## RESULTADOS

No período em que foi realizado o estudo, ocorreram 261 internações de RNs nascidos na UTI neonatal. Foram excluídos 2 pacientes por transfusão de hemoderivados antes da coleta de urina (0,76%), 2 por ausência de consentimento dos pais (0,76%), 1 por perda de amostra de urina (0,38%), 2 por óbito antes da coleta (0,76%) e 4 (1,5%) por alta precoce (antes da coleta).

A população estudada caracterizou-se por 145 RNs do sexo masculino (58%) e 105 de RNs do sexo feminino (42%). Os principais motivos de internação foram prematuridade (111 casos, 44,4%), disfunção respiratória (64 casos, 25,6%), sepse (31 casos, 12,4%), hipoglicemia (21 casos, 8,4%). A média de peso da população de RNs estudada foi  $2,412 \pm 900$  gramas e a idade gestacional média foi de  $35,7 \pm 3,7$  semanas. O crescimento intra-uterino da maioria dos RNs foi adequado (67,9%), 26,9% eram pequenos para a idade gestacional e 5,2% grandes para a idade gestacional. A idade das mães variou de 14 a 48 anos (média  $25,8 \pm 7,3$  anos). Mais de 80% da população de gestantes era casada ou tinha união estável. Das 250 gestantes que participaram do estudo, 237 (94,8%) realizaram pré-natal. Destas, 175 fizeram 4 ou mais consultas durante a gestação e 62 de 1 a 3 consultas.

Dos 250 RNs que entraram no estudo, 2 apresentaram PCR para CMV na urina positivo, o que correspondeu a uma prevalência de 0,8% (IC: 0,097% - 2,86%). Nenhum dos testes, realizados em duplicata, apresentou discordância.

Em relação aos pacientes com infecção por CMV, um deles era de mãe adolescente (16 anos), estudante, com parceiro fixo, preta, primeira gestação, planejada, pré-natal sem intercorrências, parto vaginal com peso 3105gramas, a termo, exame normal, SNAPE-PE (Score

for Neonatal Acute Physiology-Perinatal Extension) 0, sexo masculino e disfunção respiratória com boa evolução. Perdeu-se o contato com esta mãe para manutenção do acompanhamento.

O outro paciente tinha mãe 30 anos, do lar, casada, branca, segunda gestação, planejada, pré-natal com infecção ovular, gestação gemelar com um feto morto. O parto foi vaginal, peso de nascimento 1260 gramas, 30 semanas de idade gestacional, SNAPE-PE 0, sexo masculino. Apresentou petéquias ao nascimento e taquipnéia persistente durante vários dias. Este paciente manteve-se em acompanhamento em nosso serviço. Com 1 ano e 6 meses ainda excretava CMV na urina, tinha desenvolvimento neurológico normal para a idade corrigida e exame ocular e auditivo normais.



## DISCUSSÃO

Estudos de prevalência para infecção congênita por CMV utilizando a reação de PCR como método diagnóstico ainda são poucos em nosso país, especialmente em uma UTI neonatal. Desta forma, este trabalho contribui com dados importantes em relação a este tema. A infecção congênita por CMV é a infecção congênita de maior prevalência no mundo, variando de 0,2 a 2,2%. Um estudo realizado por Santos *et al*, em Minas Gerais, mostrou uma prevalência de infecção congênita por CMV em UTI neonatal, de 6,8%(13). Em nosso estudo, a prevalência encontrada foi de 0,8% (2 casos de 250 pacientes). Esta prevalência difere da encontrada no trabalho de Santos *et al*, mas está dentro dos números apresentados em outros trabalhos realizados no Brasil e em outros países. Em São Paulo, um estudo realizado por PANUTTI *et al*, em 1985, comparou a prevalência de infecção congênita por CMV em populações de classe média e baixa, encontrando uma prevalência de 0,39 e 0,98%, respectivamente. Este estudo avaliou 1614 RNs de classe média (pesquisando a infecção por CMV em 518 por isolamento viral na urina nos primeiros 7 dias de vida e em 1096 por imunofluorescência para CMV IgM no sangue de cordão umbilical) e 1156 RNs de classe baixa (508 por isolamento viral na urina e 648 por sorologia). Nos grupos em que a infecção por CMV foi pesquisada por isolamento viral, a prevalência de infecção foi praticamente duas vezes maior do que nos grupos pesquisados por sorologia (11). Este estudo nos mostra uma prevalência maior na classe socioeconômica mais baixa e maior sensibilidade do isolamento viral como método diagnóstico. Provavelmente, alguns casos positivos, testados por sorologia, podem não ter sido diagnosticados (falsos negativos) por não haver produção de IgM anti-CMV tão precoce em grande parte dos casos. No Chile, um estudo realizado por LUCHSINGER *et al* também comparou a incidência de infecção

por CMV de acordo com classe social. Neste estudo o diagnóstico de infecção foi feito por isolamento viral em urina ou secreção orofaríngea, e não houve diferença significativa entre as duas populações (prevalência de 1,86% em pacientes de clínica privada e 1,81% em pacientes de hospital público). O estudo atribuiu estes resultados a uma taxa muito alta de infecção por CMV em todas as classes sociais no Chile, não havendo diferença entre as mesmas (17). Em Ribeirão Preto (SP), um estudo realizado em um hospital universitário mostrou uma prevalência de infecção congênita (diagnosticada por isolamento viral na urina) de 2,6% (14). Em outro trabalho, realizado também em Ribeirão Preto (SP), testou-se a prevalência de infecção congênita por CMV em filhos de gestantes HIV positivas, encontrando-se uma prevalência de 2,7%, o que não diferiu da prevalência encontrada em mulheres HIV negativas (o diagnóstico foi feito por isolamento viral na urina nas duas primeiras semanas de vida) (12). Este mesmo grupo de Ribeirão Preto (SP) comparou a prevalência de infecção congênita por CMV em RNs a termo e pré-termo, através de cultura e detecção do DNA viral na urina. Não houve diferença significativa na prevalência entre os grupos, que foi 1,8% nos RNs a termo e 2,1% nos RNs pré-termo (18). Outros estudos de prevalência realizados no Japão, México e Israel encontraram uma prevalência de infecção congênita por CMV de 0,31%, 0,89% e 0,7%, respectivamente. Os métodos utilizados para o diagnóstico de infecção foram de alta sensibilidade e especificidade nos três estudos, cultura viral na urina, cultura viral na saliva e PCR para CMV na urina, respectivamente (19,20,21). Mais recentemente, em 2004, um estudo realizado por NETO *et al.*, coletou amostras de sangue de RNs de diversas áreas do Brasil e realizou testes sorológicos para diversas infecções congênitas, dentre elas, infecção por citomegalovírus. O teste utilizado foi dosagem de ELISA-IgM para CMV e os bebês com IgM positiva foram considerados infectados. De 15,873 RNs que entraram no estudo, 39 tiveram IgM positiva para CMV (0,2%). Estes RNs e

suas mães foram retestados para confirmação do exame, sendo que 16 tiveram o teste confirmado(22). Apesar de ser um estudo abrangente e com um número grande de RNs, ele não utiliza o teste padrão (detecção do vírus em saliva ou urina) e muitos RNs podem ter sido perdidos (falsos negativos) por não apresentarem produção de IgM no momento do exame. Portanto não tem boa sensibilidade e especificidade.

Além do estudos de Santos (13) não foram encontrados na literatura outros estudos de prevalência em UTIs neonatais no Brasil. Na Finlândia, um estudo detectou uma prevalência de infecção congênita por CMV de 4,8% em RNs prematuros, abaixo de 34 semanas em uma UTI neonatal, RNs a termo não entraram no estudo (23). Em Milão, Itália, a prevalência encontrada na população geral de uma UTI neonatal foi de 1%, esta prevalência mais baixa foi atribuída à alta soropositividade materna (87% das gestantes tinham IgG positivo no início da gestação) (24). No Japão, em uma UTI neonatal foi encontrada uma prevalência de 10% de infecção congênita por CMV através do teste de PCR. Os bebês com teste positivos eram PIGs ou prematuros. Não são citados populacionais importantes como caracterização das mães e realização de pré-natal (25).

A caracterização da população em um estudo de prevalência é um dado muito importante, em especial na infecção por CMV a qual sabemos está relacionada com idade materna baixa, estado civil solteira, classes sócio econômicas desfavorecidas, atividade sexual com múltiplos parceiros, multiparidade e agrupamentos populacionais. Sua prevalência varia conforme o tipo de população estudada. Por ter sido realizado em uma UTI neonatal e por tratar-se de RNs com mais fatores de risco para a infecção, esperava-se que a prevalência em nosso estudo fosse mais alta, no entanto, isto não ocorreu. A infecção congênita por CMV parece estar mais associada às características da população (supra-citadas), do que às características dos RNs. Os trabalhos de

Ribeirão Preto (12,18) nos mostram que não houve uma maior prevalência em gestantes HIV positivas, nem em RNs prematuros. Assim, as características da população por nós estudada, justificam uma menor prevalência de infecção congênita por CMV, mesmo tendo sido realizado dentro de uma UTI neonatal. Apesar de ser um hospital público, a população que o frequenta parece ser bem diferenciada. Apenas 11% das gestantes que participaram do estudo tinham menos de 18 anos e em torno de 80% eram casadas ou tinham uma união estável, excluindo dois importantes fatores de risco para a infecção por CMV, que são a gestante adolescente e a promiscuidade sexual. Além disso, a grande maioria das gestantes, 94,8% delas, fizeram um pré-natal adequado, recebendo orientações quanto aos cuidados necessários durante a gestação. Atribuímos ao pré-natal a diferença nesta prevalência mais baixa. Um estudo realizado por Lanski *et al* faz uma grande revisão da literatura sobre fatores que poderiam diminuir a mortalidade perinatal, concluindo que uma boa assistência pré-natal seria um deles (26). Acreditamos que o impacto de um acompanhamento pré-natal adequado se reflete não apenas na mortalidade, mas também na morbidade neonatal. Um bom pré-natal diagnostica e trata problemas, orienta e educa as gestantes quanto a cuidados nutricionais, físicos, hábitos de higiene, dentre outros, conseguindo, através disso, a prevenção primária de patologias que poderiam se manifestar no RN.

O outro fator é que pacientes encaminhados de outros hospitais não entraram no estudo, pois, como o hospital estudado é hospital de referência, muitos pacientes com suspeita de infecção congênita são encaminhados para lá. Se estes pacientes fossem incluídos, talvez a prevalência fosse mais alta, mas aí teríamos uma amostra com vício de seleção. No estudo de Santos *et al*, no qual a prevalência de infecção congênita por CMV em UTI neonatal é de 6,8%, não é citado se pacientes vindos de outros hospitais foram incluídos ou não. Em caso positivo,

isto poderia explicar esta prevalência tão alta quando comparada aos outros trabalhos. Outros fatos que chamaram a atenção no trabalho de Santos *et al*: 70% da população estudada tinha peso abaixo de 2500 gramas e a maioria era pequena para a idade gestacional (PIG), enquanto, na população do presente estudo, 57,2% dos RNs tinham peso abaixo de 2500 gramas e apenas 26,9% eram PIGs. Estas características populacionais são mais encontradas na infecção congênita por CMV. Apesar de ter sido realizado em uma UTI neonatal, RNs a termo, com bom peso de nascimento, AIGs e com patologias menos graves (icterícia, hipoglicemia, suspeita de sepse) também entraram no nosso estudo. Se o estudo fosse feito apenas com RNs prematuros e de baixo peso, talvez a prevalência encontrada fosse mais alta. Por isso, é importante a caracterização da população estudada, e este estudo mostra a população geral de uma UTI, e não apenas RNs prematuros e com patologias graves.

Na população estudada não foi possível detectar diferenças entre os grupos com e sem infecção congênita por CMV. No primeiro caso positivo, a mãe era adolescente, o que está associado a uma maior chance de infecção. Não houve outros fatores de risco neste caso e o paciente era assintomático (internou por taquipnéia transitória de rápida resolução). O segundo caso positivo foi uma gestação gemelar com o irmão feto morto (que não foi testado para infecção por CMV). O paciente em questão era prematuro, teve quadro de taquipnéia e petéquias, que foi atribuído a uma sepse (o PCR para CMV na urina foi realizado em urina armazenada e o diagnóstico acabou sendo feito mais tardiamente). Este paciente poderia ser considerado sintomático, mas não apresentou seqüela neurológica ou auditiva até 1 ano e meio de idade (quando tinha exame neurológico e avaliação auditiva normais). Com 1 ano e meio ainda excretava CMV na urina.

A técnica de PCR na urina para a pesquisa do DNA viral é um método diagnóstico de alta sensibilidade e especificidade, com facilidade de coleta e resultado rápido. Para evitar contaminação de amostras e resultados falso positivos, foram tomados certos cuidados, como o uso de ponteiras com filtros de barreira, quatro ambientes distintos para as diversas etapas do exame, além do uso de controles negativos em cada amplificação. Também foram usados controles positivos para evitar falsos negativos. Todas as amostras foram testadas em duplicata. No momento, parece ser o exame mais confiável para o diagnóstico de infecção no RN. A maior dificuldade para a realização deste exame seria o custo, que ainda é alto, mas que deixa de sê-lo quando comparado ao grande prejuízo social causado pelas seqüelas neurológicas e auditivas causadas pela doença, que poderiam ser amenizadas por um diagnóstico precoce. Um estudo recente, realizado por Barbi *et al*, utilizou os cartões do Teste do Pezinho para detecção do DNA do CMV, mostrando alta sensibilidade e especificidade (100% e 99%, respectivamente) (27). Considerando-se a maior prevalência da infecção congênita por CMV, quando comparada a outras doenças pesquisadas no Teste do Pezinho, sua inclusão neste exame é uma possibilidade de teste diagnóstico que deveria ser considerada. O diagnóstico precoce desta infecção, possibilitaria a orientação dos familiares de RNs com teste positivo, o acompanhamento multidisciplinar dos bebês sintomáticos, o rastreamento e diagnóstico precoce das complicações nos bebês assintomáticos e a realização de novos estudos em relação ao tratamento, trazendo mais esperança em relação ao futuro destas crianças, em termos de tratamento, prognóstico e qualidade de vida.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Casteels A, Naessens A, Gordts F, De Catte L, Bougatef A, Foulon W. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infections. *J Perinat Med.* 1999; 27(2): 116-121.
2. Stagno S, Pass RF, Cloud GA, Britt WJ, Henderson RE, Walton PD, *et al.* Primary cytomegalovirus infection: incidence, transmission to the fetus, and clinical outcome. *JAMA.* 1986; 256(14): 1904-1908.
3. Berenberg W, Nankervis G. Long-term follow-up of cytomegalic inclusion disease of infancy. *Pediatrics* 1970; 37: 403.
4. Pass RF, Stagno S, Myers GJ, Alford CA. Outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: Results of long-term longitudinal follow-up. *Pediatrics.* 1980; 66(5): 758-762.
5. Reynolds DW, Stagno S, Stubbs KG, Dahle AJ, Livingston MM, Saxon SS, *et al.* Inapparent congenital cytomegalovirus infection with elevated cord IgM levels: Causal relationship with auditory and mental deficiency. *N Engl J Med.* 1974; 290(6): 291-296.
6. Stagno S, Reynolds DW, Amos CS, Dahle AJ, McCollister FP, Mohindra I, *et al.* Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and toxoplasma infections. *Pediatrics.* 1977; 59(5): 669-678.
7. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and Management of Human Cytomegalovirus Infection in the Mother, Fetus and Newborn Infant. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(4): 680-715.
8. Conboy T, Pass RF, Stagno S, Alford CA, Myers GJ, Britt WJ, *et al.* Early clinical manifestations and intellectual outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr.* 1987; 111(3): 343-348.

9. Stagno S, Pass RF, Dworski ME, Alford CA. Congenital and Perinatal Cytomegalovirus Infections. *Semin Perinatol.* 1983; 7(1): 31-42.
10. Murph JR, Souza LE, Dawson JD, Benson P, Petheram SJ, Pfab D, et al. Epidemiology of congenital cytomegalovirus infection: maternal risk factors and molecular analysis of cytomegalovirus strains. *Am J Epidemiol.* 1998; 147(10): 940-947.
11. Pannuti CS, Vilas-Boas LS, Angelo MJO, Carvalho RPS, Segre CM. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in two socioeconomically distinct populations of a developing country. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1985; 27(2): 105-107.
12. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Figueiredo LT, Cervi MC, Duarte G. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection in infants born to mothers infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr.* 1998; 132(2): 285-290.
13. Santos DV, Souza MM, Gonçalves, SH, Cotta AC, Melo LA, Andrade GM, *et al.* Congenital Cytomegalovirus Infection in a Neonatal Intensive Care Unit in Brazil Evaluated by PCR and Association with Perinatal Aspects. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000; 42 (3): 129-132.
14. Yamamoto AY, Figueiredo LT, Mussi-Pinhata MM. Prevalência e aspectos clínicos da infecção congênita por citomegalovírus. *J Pediatr.* 1999, 75 (1): 23-28, 1999.
15. Demmler GJ. Infectious Diseases Society of America and Centers for Disease Control. Summary of a workshop on surveillance for congenital cytomegalovirus disease. *Rev Infect Dis.* 1991; 13(2): 315-329.
16. Read SJ, Jeffery KJM, Bangham CRM. Aseptic Meningitis and Encephalitis: the Role of PCR in the Diagnostic Laboratory. *J Clin Microbiol.* 1977; 35(3): 691-6.



17. Luchsinger VF, Suárez MG, Schultz RA, Barraza P, Guzman M, Terrada L, et al. Incidencia de infección congénita por cytomegalovirus en recién nacidos de distinta condición socioeconómica. *Rev Med Chil.* 1996; 124(4): 403-408.
18. Yamamoto AY, MussiPinhata, MM, Pinto PC, Figueiredo LT, Jorge SM. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. *Pediatr Infect Dis J.* 2001; 20(2): 188-192.
19. Noyola DE, Elizondo AR, Lima JM, Canseco-Lima JM, Allende-Carrera R, Hernansez-Salinas AE, et al. Congenital Cytomegalovirus Infection in San Luis Potosi, Mexico. *Pediatr Infect Dis J.* 2003; 22(1): 89-90.
20. Numazaki K, Fujikawa T. Chronological changes of incidence and prognosis of children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection in Sapporo, Japan. *BMC Infect Dis.* 2004; 4(1): 22.
21. Schlesinger Y, Halle AI, Eidelman D, Reich D, Dayan D, Rudesnsky B, *et al.* Urine polymerase chain reaction as a screening tool for the detection of congenital cytomegalovirus infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003; 88(5): F371-F374.
22. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn Screening for Congenital Infectious Disease. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10 (6): 1069-1073.
23. Panhani S & Heinonen K. Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection among Preterm Infants Born before the 34th Gestational Week inFinland. *Scand J Infect Dis.* 1994; 26: 375-378.
24. Oda K, Oki S, Tsumura N, Nakao M, Motohiro T, Kato H. Detection of Cytomegalovirus DNA in Urine from Newborns in NICU Using a Polymerase Chain Reaction. *Kurume Med J.* 1995; 42(1):39-44.

25. Barbi M, Cappellini D, Ferrante P, Ruggeri M, Lattanzio M, Ferliga A, et al. Infezioni Congenite da Cytomegalovirus in una Unita' di Patologia Neonatale. Boll Ist sieroter milan. 1985; 64: 262-268.
26. Lansky S, França E, Leal MC. Perinatal mortality and evitability: a review. Rev Saude Publica. 2002; 36(6): 759-772.
27. Barbi M, Binda S, Primache V, Caroppo S, Guidotti p, Corbetta C, et al. Cytomegalovirus DNA detection in Guthrie cards: a powerful tool for diagnosing congenital infection. J Clin Virol. 2000; 17: 159-165.

# **ANEXOS**

**ANEXO 1**  
**QUESTIONÁRIO (Instrumento de coleta de dados)**

1. Prontuário:
2. Nome da mãe:
3. Idade materna:
4. Profissão:
5. Renda familiar:
  - a. < 1 salário mínimo
  - b. 1 a 3 salários mínimos
  - c. 4 a 6 salários mínimos
  - d. 7 a 10 salários mínimos
  - e. > 10 salários mínimos
6. Endereço:
7. Estado civil:
8. Cor:
9. Gestação planejada:
  - a. Sim
  - b. Não
10. Escolaridade:
11. Pré-natal:
  - a. Sim (número consultas: )
  - b. Não
12. Início do pré-natal:

a. Primeiro trimestre

b. Segundo trimestre

c. Terceiro trimestre

13. Infecção durante a gestação:

a. Sim (qual:        )

b. Não

c. Não sabe

14. DST durante a gestação:

a. Sim ( qual:        )

b. Não

c. Não sabe

15. Fumo, álcool ou drogas durante a gestação:

a. Sim (quantos cigarros por dia, tipo de droga)

b. Não

16. HIV positivo:

a. Sim

b. Não

c. Não sabe

17. Tipo de parto:

a. Vaginal

b. Cesárea

c. Fórceps

18. Peso de nascimento:

- a.  $\leq 1000$  g
- b. 1001 a 1500g
- c. 1501 a 2500g
- d.  $>2500$ g

19. Idade pediátrica:

- a.  $\leq$  a 24 semanas
- b. 24+1 a 27+6 semanas
- c. 28 a 32 semanas
- d. 32+1 a 37 semanas
- e.  $> 37$  semanas

20. ( ) PIG

( ) AIG

( ) GIG

21. Índice de APGAR no quinto minuto:

- a. menor ou igual 6
- b. maior que 6

22. Motivo da internação:

23. Alterações no exame físico:

- a. Sim (qual:     )
- b. Não

24. Data de nascimento:

25. Sexo:

26. SNAPPE-PE:

## ANEXO 2

### CONSENTIMENTO INFORMADO

Estamos estudando a infecção por citomegalovírus.

Esta é uma infecção bastante comum em recém-nascidos.

Na maioria dos casos ela não apresenta sintomas, mas, em alguns bebês, pode causar pneumonia, meningite, sangramentos e até conseqüências mais graves.

Mesmo nos bebês sem sintomas, ela pode mais tarde causar surdez ou dificuldades de aprendizado.

Sua investigação não é feita de rotina nas mães durante o pré-natal, nem nos bebês após o nascimento, por isso estamos fazendo um exame de urina para detectar esta infecção.

Este exame não causa nenhum problema ou risco à saúde, e o seu bebê não sentirá dor.

Consiste na coleta de urina através de um saco coletor e na pesquisa da infecção nesta urina através de um exame chamado PCR.

Convidamos o seu bebê para participar desse estudo.

Caso o exame estiver alterado, seu bebê realizará exames para investigação e será acompanhado no Serviço de Pediatria do HCPA.

Se você desistir de participar deste estudo, poderá sair da pesquisa.

O seu nome e o nome do seu bebê serão mantidos no anonimato.

Porto Alegre, \_\_\_\_\_.

Pesquisadores: Clarissa Miura e Ernani Miura

Tel: 3316-8142