

Judith Weirich

**Infeccão Congênita pelo  
Citomegalovírus:**

Estudo Realizado na Fundação  
Santa Casa de Misericórdia do Pará

Belém  
1997

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

Judith Weirich

**INFECCÃO CONGÊNITA PELO CITOMEGALOVÍRUS:**

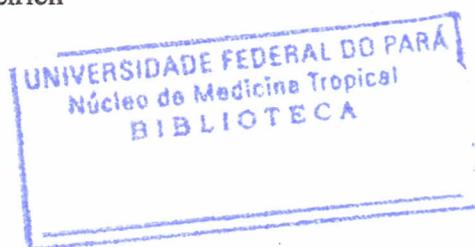
**ESTUDO REALIZADO NA FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO**

**PARÁ**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
Núcleo de Medicina Tropical  
BIBLIOTECA

1997

Judith Weirich



## **INFECCÃO CONGÊNITA PELO CITOMEGALOVÍRUS:**

**ESTUDO REALIZADO NA FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO  
PARÁ**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Medicina Tropical do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Barbosa de Rezende

Co-orientadora: Dra. Elisabeth de Oliveira Santos

Belém

1997

616.925  
W425i  
D13

Weirich, Judith

Infecção congênita pelo citomegalovírus: estudo realizado na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará. /Judith Weirich, Belém, 1997.

124 p. : il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical.

I. Infecções por citomegalovírus - Congênito. I. Universidade Federal do Pará. II. Título.

CDD 616.0194

CLASS. 616.0194

CUTTER W425c

TOMBO04 31/03/99

**INFECÇÃO CONGÊNITA PELO CITOMEGALOVÍRUS:  
ESTUDO REALIZADO NA FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO  
PARÁ**

Judith Weirich

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Medicina Tropical do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical.

Banca examinadora:

Dr. Manoel Barbosa de Rezende

Dr<sup>a</sup>. Ermelinda do Rosário Moutinho da Cruz

Dr. Luís Carlos Severo

Dr<sup>a</sup>. Eloísa Flora de Arruda Moura

Conceito: Excelente

14/11/97

“Há homens que lutam um dia e são bons.  
Há outros que lutam um ano e são melhores.  
Há aqueles que lutam anos e são muito bons.  
Mas há os que lutam toda a vida. Estes são  
os imprescindíveis.”

Bertold Brecht

À minha mãe,  
que me ensinou os caminhos da luta  
e da honestidade.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Manoel Barbosa de Rezende, pela orientação e apoio em momentos difíceis sem os quais a realização deste estudo não seria possível.

À Dra. Elisabeth de Oliveira Santos, co-orientadora desta dissertação, virologista do Instituto Evandro Chagas, pela sua experiência em virologia que muito contribuiu para elevar a qualidade do presente trabalho.

À Prof. Maria de Fátima Assis, do Departamento de Genética da Universidade Federal do Pará, pelos primeiros ensinamentos em cultura de células, que foram imprescindíveis para minha formação.

Ao Dr. Manuel Ayres, pela orientação na análise estatística do presente trabalho.

Ao Dr. Jorge Travassos da Rosa, diretor do Instituto Evandro Chagas, pelo incentivo e confiança que nos tem dado.

À Coordenadora do Mestrado em Medicina Tropical, Dra. Ermelinda Moutinho da Cruz, pela sua luta e tenacidade para a realização deste curso.

Aos professores do curso de pós-graduação, que tudo fizeram para transmitir seus ensinamentos, incentivando-nos a buscar seu aperfeiçoamento.

À turma da pós-graduação, Vânia, Paulo, Nagib, Ana Yecê, Ana Maria, Érika, Eliete, pelos momentos de amizade e companheirismo.

À Direção, médicos e enfermeiras da Fundação Santa Casa de Misericórdia, pelo respeito pessoal e apoio dado a este trabalho.

Ao Dr. Alexandre da Costa Linhares pela colaboração durante a redação do Abstract.

À bibliotecária do Instituto Evandro Chagas Nazária Higashi, pelas suas orientações, possibilitando que avançássemos no conhecimento bibliográfico do tema escolhido.

À bibliotecária Maria das Graças Campos Sampaio, da Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, pela assessoria na revisão bibliográfica.

À Dra. Iracina Maura de Jesus, pelas valiosas sugestões na interpretação dos resultados e análises estatísticas.

Aos colegas dos Laboratórios de Virologia e Cultura de Tecidos da Coordenação de Ecologia Humana e Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas, pela colaboração para a execução do presente trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

RESUMO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1. HISTÓRICO.....	13
1.2. EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO CITOMEGALOVÍRUS.....	21
1.3. INFECÇÃO CONGÊNITA PELO CITOMEGALOVÍRUS.....	22
1.3.1. Prevalência de anticorpos específicos para o CMV.....	30
1.3.2. Infecção congênita pelo CMV em filhos de mulheres com infecção primária e recorrente.....	33
1.3.3. Tratamento e prevenção.....	36
1.4. ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL.....	38
1.5. OBJETIVOS.....	39
1.5.1. Geral.....	39
1.5.2. Específicos.....	39
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	41
2.1. CASUÍSTICA.....	41
2.1.1. Recém-nascidos estudados.....	44
2.2. MÉTODOS.....	45
2.2.1. Coleta do material.....	45

2.2.1.1. Sangue.....	45
2.2.1.2. Saliva.....	45
2.2.1.3. Urina.....	46
<b>2.2.2. Isolamento do citomegalovírus.....</b>	<b>47</b>
2.2.2.1. Sistema celular.....	47
2.2.2.2. Obtenção das culturas primárias de fibroblasto de prepúcio humano.....	49
2.2.2.3. Inóculo.....	52
<b>2.2.3. Identificação das amostras isoladas.....</b>	<b>53</b>
2.2.3.1. Efeito citopático.....	53
2.2.3.2. Imunofluorescência indireta.....	53
<b>2.2.4. Dosagem de anticorpos específicos para o citomegalovírus.....</b>	<b>55</b>
2.2.4.1. Pesquisa de anticorpos IgG.....	55
2.2.4.2. Pesquisa de anticorpos IgM.....	58
2.3. MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	60
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>62</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>79</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>96</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>98</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>100</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>120</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	p.
Fig. 1 - Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará. ....	41
Fig. 2 - Enfermaria de obstetrícia da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará. ....	42
Fig. 3 - Cultura primária, (2n 46, XY), de fibroblasto de prepúcio humano. As setas indicam células em divisão celular. ....	48
Fig. 4 - Fibroblasto de prepúcio humano em divisão celular. ....	48
Fig. 5 - Fibroblastos de prepúcio humano. ....	49
Fig. 6 - Monocamada de fibroblastos de prepúcio humano. ....	52
Fig. 7 - Domicílios das 663 gestantes da FSCM-PA, segundo condição de ocupação, período de 1994 a 1995. ....	68
Fig. 8 - Gestantes atendidas na FSCM-PA, segundo faixa etária, no período de 1994 a 1995. ....	69
Fig. 9 - Soroprevalência de anticorpos IgG para citomegalovírus, em gestantes atendidas na FSCM-PA, segundo faixa etária, no período 1994 a 1995. ....	71
Fig. 10 - Peso ao nascer de 663 recém-nascidos da FSCM-PA, segundo o sexo, no período de 1994 a 1995. ....	73
Fig. 11 - Tubo controle mostrando a monocamada de fibroblasto humano sem inoculação do CMV, com o mesmo processo de manutenção das células que foram inoculadas. ....	74
Fig. 12 - Efeito citopático do CMV em fibroblastos de prepúcio humano, após 10 dias de inoculação da urina de uma criança com infecção congênita. ....	75

Fig. 13 - Efeito citopático do CMV em fibroblastos de prepúcio humano, após 17 dias de inoculação da urina de uma criança com infecção congênita. ....75

Fig. 14 - Valores do perímetro cefálico dos 21 recém-nascidos de várias idades gestacionais, com infecção congênita pelo CMV, em relação a curva de crescimento cefálico intra-uterino normal baseado no padrão Colorado de crescimento intra-uterino (Lubchenco et al., 1966)..... 76

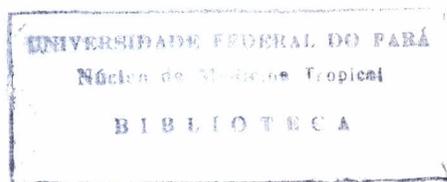
## LISTA DE TABELAS

	p.
Tabela 1 - Estado civil de 663 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	62
Tabela 2 - Escolaridade de 663 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	63
Tabela 3 - Escolaridade dos cônjuges de 481 gestantes da FSCM-PA, atendidas no período de 1994 a 1995. ....	63
Tabela 4 - Nível de ocupação de 663 gestantes da FSCM-PA, segundo o estado civil, atendidas no período de 1994 a 1995. ....	64
Tabela 5 - Grupos de ocupação de 75 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	65
Tabela 6 - Grupos de ocupação dos cônjuges de 481 gestantes da FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	65
Tabela 7 - Renda familiar* em salários mínimos, de 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	66
Tabela 8 - Condições sanitárias dos domicílios das 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	67
Tabela 9 - Número de consultas do pré-natal de 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	70
Tabela 10 - Número de gestações das 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	70

Tabela 11 - Incidência de infecção congênita pelo CMV em 663 recém-nascidos, avaliada pelo isolamento do vírus da saliva e pela pesquisa de anticorpos IgM, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	73
Tabela 12 - Achados virológicos e alterações clínicas observadas em 21 recém-nascidos com diagnóstico confirmado de infecção congênita pelo CMV, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995. ....	77
Tabela 13 - Antecedentes familiares e resultados sorológicos observados nas mães dos 21 recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.....	78
Tabela 14 - Prevalência de anticorpos para o CMV em gestantes de diversas regiões. ....	82
Tabela 15 - Incidência de infecção congênita pelo CMV em diversos países diagnosticado por isolamento do vírus. ....	84

## RESUMO

O citomegalovírus é um vírus de DNA, pertencente à família *Herpesviridae*, subfamília *Beta-herpesvirinae*. Sua distribuição é universal e pode causar infecções congênicas e perinatais, assim como durante a infância e na idade adulta. É um dos principais patógenos responsáveis pela morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos. Foi estudada a incidência da infecção congênita pelo citomegalovírus, na maternidade da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, no período de novembro de 1994 a maio de 1995. A amostra trabalhada constou de 663 recém-nascidos e suas respectivas mães. O peso dos recém-nascidos variou de 900 a 5450 g, com uma média de 3046g. Em 11,4% das crianças foi observado baixo peso ao nascer. A avaliação pelo isolamento do vírus da saliva dos 663 recém-nascidos, através da inoculação em células primárias de fibroblasto de prepúcio humano, mostrou 3,2% (21) de positividade. A pesquisa de anticorpos IgM específicos para o CMV, através do método ELISA, utilizando-se sangue do cordão umbilical do mesmo grupo de recém-nascidos foi positiva em 2,1% (14). Para o diagnóstico da infecção congênita pelo CMV, a análise estatística pelo Teste de McNemar dos Pares Discordantes ( $p=0,0233$ ) e Teste do Qui-Quadrado da Homogeneidade ( $p<0,01$ ) demonstrou que o isolamento do citomegalovírus da saliva foi mais sensível que a detecção de anticorpos IgM no sangue do cordão umbilical. Dos 21 recém-nascidos infectados, 28,5% (6) apresentaram nas primeiras 24 horas de vida, sintomatologia sugestiva de infecção congênita. Os sinais e sintomas encontrados foram microcefalia (4), prematuridade (3), hepatoesplenomegalia (2), pequeno para a idade gestacional (2) e icterícia precoce (1). A pesquisa de anticorpos IgG específicos para o CMV, pelo método ELISA, foi positiva em 90,2% das puérperas. Das 21 mulheres que transmitiram o vírus para o concepto, foram detectados anticorpos IgM em 4. A entrevista pessoal com as mães dos recém-nascidos revelou nível socioeconômico baixo e assistência pré-natal deficiente, com 26,4% das puérperas sem nenhuma consulta durante o período gestacional. Em nossa amostra, a idade materna variou de 12 a 42 anos, com idade média de 22,2 anos, sendo que a idade das mães dos recém-nascidos infectados foi inferior a 25 anos.



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. HISTÓRICO

Ribbert em 1881 observou pela primeira vez a presença de células grandes, de aspecto bizarro, com inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas, no rim de um natimorto com diagnóstico de sífilis congênita. (*apud* Goodpasture & Talbot, 1921, p. 415).

Na época, o autor não valorizou as alterações encontradas nessas células e publicou o fato somente após o relato de Jesionek & Kiolemenoglou (1904) que descreveram pela primeira vez a infecção pelo citomegalovírus (CMV). Esses autores encontraram células aumentadas de volume contendo inclusões intranucleares nos rins, pulmões e fígado de um feto de 8 meses com o mesmo diagnóstico de sífilis congênita.

Jackson (1920) chamou a atenção para a presença de lesões semelhantes nas glândulas salivares de cobaias, e justificou como sendo causadas por protozoários.

Goodpasture & Talbot (1921), apresentaram o caso de uma criança de 6 semanas de idade que, no exame físico apresentava palidez, edema e *rush* cutâneo no abdômen, nádegas e membros inferiores. A criança evoluiu a óbito. Na necropsia foi constatada a presença de inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas nos pulmões, rins e fígado. Os autores sugeriam que essas estruturas eram provenientes de alterações sofridas pelas células, representando o efeito de uma inflamação crônica e passaram a questionar o conceito difundido por Ribbert e outros importantes patologistas da época, que supunham ser a célula com a presença de inclusões, um protozoário. Foi Goodpasture que propôs o nome de citomegalia para caracterizar esta alteração da estrutura celular.

Os estudos de patologia comparada em vários tipos de animais como cobaias (Jackson, 1920), ratos (Thompson, 1932), toupeiras (Rector, E. & Rector, L., 1934), macacos (Cowdry & Scott, 1936), camundongos (McCordock & Smith, 1936), revelaram células citomegálicas idênticas às observadas no homem. Na grande maioria dos animais as lesões estavam restritas as glândulas salivares, aparentemente sem provocar sintomatologia.

Os estudos de inoculação experimental em animais, tornaram evidente que as células citomegálicas seriam a expressão de uma entidade nosológica de provável etiologia viral (Cole & Kuttner, 1926; McCordock & Smith, 1936).

Cole & Kuttner (1926) observando as glândulas salivares de 75 cobaias com idade superior a 6 meses, constataram células citomegálicas em 63 (84%) animais. Examinando 48 cobaias com idade inferior a 30 dias, encontraram as lesões somente em 3 animais, concluindo que o provável agente etiológico de origem viral causaria infecção somente após as primeiras semanas de vida e que a maioria dos animais estariam infectados na idade adulta.

Posteriormente, Cole & Kuttner (1926) confirmaram a transmissibilidade entre animais da mesma espécie, ao inocularem macerado de glândula salivar de cobaias adultas infectadas em animais jovens da mesma espécie, nos quais ocorreu o desenvolvimento das inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas características. Nesse mesmo experimento, os autores filtraram e inocularam em animais jovens da mesma espécie, material de glândulas salivares com lesões citomegálicas características, reproduzindo as lesões típicas. Outra fase da pesquisa, foi a inoculação de material infectado de cobaias em outros tipos de animais, como coelhos, ratos e gatos, nos quais não ocorreu

o desenvolvimento das células com inclusões. Os autores demonstraram a presença de um agente infeccioso filtrável, transmissível em série nos animais da mesma espécie porém, não transmissível para animais de outras espécies e que poderia levar a quadros disseminados fatais.

Farber & Wolbach (1932) publicaram um estudo retrospectivo dos casos de doença com presença de inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas. Até esta data, havia apenas 25 casos documentados na literatura médica mundial, todos diagnosticados em necropsias. A casuística era composta por 24 natimortos ou recém-nascidos e um adulto de 36 anos. As células com inclusões foram detectadas principalmente nas glândulas parótidas, rins, pulmões e fígado.

Os autores (Farber & Wolbach, 1932) realizaram a necropsia de 183 crianças, que foram a óbito por motivos diversos e, em 22, foram observadas células com inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas nas glândulas salivares. No mesmo estudo foram incluídos outros 4 casos com presença das lesões, documentados em anos anteriores, totalizando 26. As crianças tinham idade inferior a 17 meses e 2 apresentavam as alterações também em outros órgãos. Todavia, os achados de Farber & Wolbach (1932), tanto do ponto de vista da clínica quanto da patologia, não conseguiram reunir estes casos numa entidade nosológica única. Segundo os pesquisadores, a disparidade dos achados e o pequeno número de casos, não permitiam a associação dos corpúsculos de inclusão a uma única doença.

A infecção pelo CMV até 1950, continuava sendo ignorada pelos livros de pediatria, bacteriologia e virologia. A doença era considerada uma raridade diagnosticada

somente pelos patologistas. Os pesquisadores consideravam as células de inclusão citomegálica um achado acidental em pacientes que morriam por outras causas. Naquele mesmo ano, Wyatt *et al.* (1950) fizeram um estudo retrospectivo dos casos com demonstração de células citomegálicas em outros órgãos além das glândulas salivares. Até esta data, haviam sido relatados 66 casos, sendo 64 crianças e 2 adultos. As lesões foram encontradas nos seguintes órgãos: pulmões (52), rins (27), fígado (21), pâncreas (10), tireóide (7), supra-renais (6), cérebro (3) e com frequência menor nos intestinos, epidídimo, baço, globo ocular e epiderme.

Wyatt *et al.* (1950) chamaram a atenção para a importância da doença como uma infecção fatal, principalmente em crianças e lactentes, ressaltando a necessidade da comunidade científica assumir que a infecção em natimortos e recém-nascidos prematuros, era transmitida da mãe para o feto durante a vida intra-uterina. Esses autores defenderam enfaticamente a etiologia viral, destacando a capacidade necrosante do vírus que causava pneumonite, hepatite, encefalite e enterite. De acordo com os autores havia a necessidade de se encontrar um método diagnóstico moderno e eficiente. Deste modo, sugeriram o nome de "doença de inclusão citomegálica generalizada" para caracterizar essa entidade nosológica.

Fetterman (1952) conseguiu demonstrar pela primeira vez a presença de células com inclusões citomegálicas na urina de uma criança prematura com 2 dias de vida. As manifestações clínicas do recém-nascido eram de icterícia, púrpura, hepatoesplenomegalia e calcificações cerebrais periventriculares, sugestivas de doença de inclusão citomegálica generalizada. A criança foi a óbito com 4 dias de vida. Na necropsia

foram detectadas células citomegálicas típicas no fígado, pulmões, rins, pâncreas, córtex cerebral, hipófise e tireóide. A comunicação do autor foi decisiva para a mudança do enfoque dado a esta entidade nosológica que saiu da esfera dos diagnósticos post-mortem para a das doenças diagnosticadas em vida.

Margileth (1955) publicou o caso de um recém-nascido que ao exame físico, 12 horas após o nascimento apresentava púrpuras, petéquias, hepatoesplenomegalia, icterícia. A criança teve acompanhamento médico contínuo durante 15 meses, período em que os exames neurológicos revelaram microcefalia e retardo no desenvolvimento psicomotor. Este fato estimulou ainda mais o interesse dos pediatras e clínicos em torno da nova entidade nosológica. Entretanto, a indefinição do agente etiológico, a presença de células com inclusões em outras doenças como sífilis congênita e a variabilidade das manifestações clínicas, eram sérios obstáculos a serem transpostos

Um passo importante na história da infecção pelo CMV foi dado por Smith (1954), quando anunciou a propagação do vírus da glândula salivar do camundongo em cultura de células.

Smith (1956), Rowe *et al.* (1956) e Weller *et al.* (1957), trabalhando independentemente, comunicaram quase simultaneamente o isolamento do agente etiológico da doença de inclusão citomegálica.

Na realidade, o único laboratório que vinha pesquisando especificamente nesta área era o de Smith, em St. Louis (USA). Portanto, podemos afirmar que, no caso dos grupos de Weller e Rowe, os isolamentos ocorreram de forma acidental. Um fato curioso ocorreu com a pesquisadora Margareth Smith, quando em correspondência datada de 02 de

abril de 1955, relatou a Weller que o manuscrito anunciando o isolamento do vírus da doença de inclusão citomegálica humana enviado junto com o que comunicava o isolamento do vírus em camundongo não foi aceito para publicação. Os editores do periódico acharam necessário uma melhor identificação do agente isolado, levantando a hipótese de ter ocorrido contaminação das culturas de células humanas com o vírus do camundongo (Weller, 1970).

Na época, Smith (1956) isolou o citomegalovírus humano (HCMV) em fibroblastos originários de tecido uterino. O primeiro isolamento se deu a partir da glândula salivar de uma criança de 7 meses que foi a óbito por carcinoma da supra-renal e, o segundo, do rim de uma criança com um mês de idade, que faleceu por doença de inclusão citomegálica generalizada. O vírus isolado foi inoculado em camundongos e coelhos, não ocorrendo o desenvolvimento das lesões características, confirmando que o vírus é espécie-específico. A autora também iniciou as pesquisas com anticorpos neutralizantes.

Rowe *et al.* (1956), estavam estudando um novo grupo de vírus, os adenovírus, observando culturas celulares originárias de adenóides humanas e, em três casos, verificaram a presença de células grandes com inclusões intranucleares típicas. As amostras foram isoladas das adenóides de um menino de 11 anos (amostra Ad 162), de uma menina de 7 anos (amostra Ad 169) e de uma menina de 6 anos (amostra Ad 182). A amostra Ad 169 é usada até hoje como padrão em praticamente todos os laboratórios do mundo. Este grupo de pesquisadores padronizaram a reação de fixação de complemento.

Utilizando as técnicas de fixação de complemento e de anticorpos neutralizantes, Rowe *et al.* (1956) encontraram correlação imunológica entre as amostras

Ad 169 (isolada por Rowe), Davis (isolada por Weller) e a amostra isolada por Smith. Na pesquisa de anticorpos, pela técnica de fixação de complemento, observaram que 71% (12/17) das amostras de sangue obtidas de cordão umbilical eram positivas. Em nova coleta realizada com seis semanas de vida, somente 25% (5/17) dessas crianças apresentavam anticorpos. Os pesquisadores constataram que esses anticorpos tendiam a desaparecer nos primeiros meses de vida, e a prevalência se acentuava após os 2 anos de idade atingindo positividade de 81% nos indivíduos com mais de 35 anos. Com estes achados, Rowe *et. al.* concluíram que a infecção pelo vírus da doença de inclusão citomegálica, não se limitava somente a recém-nascidos e crianças, pois ocorria com grande frequência na população geral.

Weller *et al.* (1957), estavam tentando isolar o *Toxoplasma gondii* a partir de biópsia hepática de uma criança de 3 meses de idade, portadora de microcefalia, calcificações cerebrais, icterícia, hepatoesplenomegalia, coriorretinite e atrofia ótica bilateral. Na segunda semana de inoculação do material em cultura de fibroblastos de tecido muscular embrionário, notaram o aparecimento de células com inclusões intranucleares. Este agente isolado recebeu o nome de amostra Davis. Nesta mesma publicação, os autores referem o isolamento do vírus da urina de 2 crianças, uma com 2 meses e outra com 6 semanas de idade. A amostra Davis foi posteriormente inoculada em diversas linhagens de fibroblastos derivados de diferentes tecidos (prepúcio, pulmão, miométrio e testículo) e em todos ocorreu o desenvolvimento do efeito citopático característico. O grupo pesquisou anticorpos neutralizantes, utilizando como padrão o vírus Davis mas a sensibilidade da reação foi baixa. Em um grupo de 7 casos de doença citomegálica confirmada, 3

apresentaram resultado negativo e a pesquisa em adultos sadios foi positiva somente em 23% dos casos.

No Brasil, os primeiros relatos de casos da doença de inclusão citomegálica, aconteceram na década de 50, baseados em achados de necropsias. Faria (1957), foi o primeiro pesquisador a tratar especificamente do assunto, apresentando 7 casos de crianças com idade variando de 3 meses a 4 anos, que foram a óbito pela doença. Nos anos seguintes, Garcia (1959), Barbosa *et al.* (1959), Refinetti *et al.* (1960), Brito & Milanesi (1964) relataram novos casos da doença encontrados em necropsias de rotina.

Em nosso país, o primeiro inquérito sorológico foi realizado por Veronesi (1959), utilizando a reação de fixação de complemento em 41 crianças da faixa etária de 0 a 4 anos, onde observou a presença de anticorpos específicos para o CMV em 60% das amostras examinadas.

Weller & Hanshaw (1960) usando o teste de neutralização fizeram um estudo comparativo entre as amostras Davis, Kerr e Esp, isoladas por Weller *et al.* (1957), Ad 169 isolada por Rowe *et al.* (1956), com soros de pacientes com casos de doença de inclusão citomegálica. Os resultados apresentaram variação entre os 4 agentes testados, levando os autores a sugerir que o vírus teria vários sorotipos. Na mesma publicação, propuseram a substituição da nomenclatura de vírus da doença de inclusão citomegálica e vírus da doença das glândulas salivares por “citomegalovírus (CMV)”, denominação aceita até hoje.

## 1.2. EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO CITOMEGALOVÍRUS (CMV)

O CMV tem distribuição universal, sendo o homem o único reservatório do HCMV (citomegalovírus humano), pois trata-se de um vírus espécie-específico. De modo geral, a infecção pelo CMV nos países em desenvolvimento e regiões pobres dos países desenvolvidos, é adquirida na infância e adolescência (Pass *et al.*, 1995).

O vírus pode ser isolado de vários fluidos orgânicos nos quais se incluem secreções cervicais (Reynolds *et al.*, 1973), esperma (Lang & Kummer, 1975), leite materno (Stagno *et al.*, 1980a), secreção orofaríngea, lágrimas, fezes e sangue (Alford & Britt, 1990).

A transmissão horizontal ocorre por contato direto com fluidos orgânicos infectados, através de contato sexual (Ho, 1978; Sohn *et al.*, 1991), por transfusão sanguínea (Sandler & Grumet, 1982; Mañez, 1993). Estudos demonstram um aumento na taxa de infecção de crianças, seus pais e em trabalhadores de creches (Pass *et al.*, 1986; Adler, 1989).

Identificar as fontes de infecção na comunidade é tarefa difícil pois a infecção pelo CMV, na maioria dos indivíduos normais, é assintomática e pode resultar na eliminação do vírus pela saliva, urina e secreções genitais durante um tempo prolongado. Crianças com infecção congênita ou perinatal, freqüentemente apresentam virúria por um período superior a 5 anos (Pass *et al.*, 1995).

A transmissão vertical ocorre por via transplacentária, por contato do recém-nascido com a secreção vaginal durante o trabalho de parto (Reynolds *et al.*, 1973) e através do leite materno (Stagno *et al.*, 1980a). A mãe pode ter sido infectada em um

episódio de infecção primária ou recorrente durante o período gestacional (Stagno *et al.*, 1977a; Stagno *et al.*, 1982; Fowler *et al.*, 1992). As lesões do sistema nervoso central ocorrem somente nos casos de transmissão por via transplacentária.

As mulheres com imunidade comprovada ao CMV, antes da gravidez, podem apresentar durante o período gestacional uma infecção recorrente causada pela reativação de um vírus latente ou uma reinfecção por uma nova cepa do vírus (Huang *et al.*, 1980).

Nos pacientes submetidos a transplante renal (Suwansirikul *et al.*, 1977; Pannuti *et al.*, 1987; Segondy *et al.*, 1993), cardíaco (Rand & Merigan, 1978; Pollard *et al.*, 1978), hepático (Marsano *et al.*, 1990) ou medula óssea (Winston *et al.*, 1982, McCarthy *et al.*, 1992) é observada frequência elevada de infecções primárias ou recorrentes pelo CMV, com manifestações clínicas graves, inclusive casos com evolução fatal.

A partir do início da década de 80, com o diagnóstico dos primeiros casos de AIDS, os pesquisadores observaram que a infecção pelo CMV era uma das principais doenças oportunistas nos aidéticos. Jacobson & Mills (1988), observaram que em 7,4% dos pacientes aidéticos o CMV é responsável pela complicação da doença.

### 1.3. INFECÇÃO CONGÊNITA PELO CMV

Com o isolamento do CMV, a partir da década de 60, diversos autores começaram a mostrar interesse no diagnóstico da doença em recém-nascidos. Weller & Hanshaw (1962), fizeram um relato de 17 casos de infecção congênita pelo CMV, diagnosticados através do isolamento do vírus na urina. Medearis (1964), observou mais 7

casos da doença e, no mesmo trabalho, fez uma avaliação das principais manifestações clínicas comparando com o grupo estudado por Weller & Hanshaw (1962).

Na época, apenas os casos de recém-nascidos que apresentavam um quadro clínico exuberante, caracterizado principalmente por hepatoesplenomegalia, icterícia, púrpura trombocitopênica, microcefalia, distúrbios psicomotores, calcificações cerebrais, coriorretinite e pneumonite eram confirmados pelo isolamento do vírus (Weller & Hanshaw, 1962; Medearis, 1964; Hanshaw, 1964).

Porém, a partir de 1965, começam a ser relatados casos de infecção congênita, comprovados pelo isolamento do vírus, com quadro clínico mais benigno ou assintomáticos e que aparentemente não deixavam seqüelas (Stern & Tucker, 1965; Emanuel & Kenny, 1966).

Hanshaw *et al.* (1968), padronizaram o teste de imunofluorescência indireta (IFI) para a pesquisa de anticorpos IgM específicos do CMV. O teste se tornou mais uma alternativa para diagnosticar esta entidade nosológica, uma vez que a mortalidade nos primeiros casos diagnosticados era muito elevada e, um fato que preocupava na época, eram as seqüelas neurológicas, tais como retardo mental, crises convulsivas, atrofia do nervo óptico, surdez, espasticidade e paraparesia observadas nos sobreviventes. (McCracken *et al.*, 1969).

Assim, a partir do final da década de 60, tiveram início os primeiros estudos prospectivos da incidência de infecção congênita pelo CMV.

Starr & Gold (1968), estudando 507 recém-nascidos, em um hospital de Cleveland (USA) detectaram através do isolamento do vírus da urina, 8 (1,57%) crianças com infecção congênita pelo CMV. Do grupo estudado, 7 crianças eram assintomáticas ao nascimento e uma criança apresentava calcificações cerebrais.

Birnbaum *et al.* (1969), em Bethesda (USA) durante o período de um ano, coletaram a urina de 545 recém-nascidos encontrando 3 (0,54%) casos de infecção congênita. As manifestações clínicas observadas em 2 crianças foram hepatoesplenomegalia discreta e petéquias disseminadas, a terceira era completamente assintomática ao nascimento.

Na cidade de Cleveland (USA) Starr *et al.* (1970), estudando 2147 recém-nascidos, observaram 26 casos (1,2%) de infecção congênita pelo CMV. Desses 2 apresentavam alterações neurológicas e uma terceira criança, com ânus imperfurado foi a óbito aos 8 meses de idade por alterações pulmonares e hepáticas.

Neste mesmo ano, foi publicado o resultado de um estudo colaborativo realizado em Manchester (Inglaterra) (CYTOMEGALOVIRUS..., 1970), com 1386 recém-nascidos dos quais 6 (0,43%) casos de infecção congênita. A incidência de infecção congênita foi maior nos filhos de mães solteiras.

Hanshaw (1971), em New York (USA) estudou 1139 recém-nascidos e isolou o CMV na urina de 12 destas crianças; uma incidência de 1,1% de infecção congênita.

Em Rochester (USA), Melish & Hanshaw (1973), estudando um total de 3808 recém-nascidos pelo método do isolamento do vírus na urina e detecção de anticorpos IgM específicos para o CMV no sangue, encontraram 22 casos de infecção congênita. Em 1963 crianças, em que foi realizada a cultura de urina, o vírus foi isolado em 20 (1%), das quais 16 eram assintomáticas. Nas 1845 restantes, através da detecção de anticorpos IgM em sangue do cordão umbilical foram detectados 2 casos de infecção pelo CMV, ambas com manifestações clínicas ao nascimento.

Stagno *et al.* (1977a), em Birmingham (USA) acompanhando 939 gestantes, confirmaram a infecção congênita pelo CMV em 2,4% (23) dos conceptos. Todos os recém-nascidos infectados estavam assintomáticos ao nascimento.

MacDonald & Tobin (1978), em Manchester (Inglaterra) detectaram infecção congênita pelo CMV em 0,24% dos 6051 recém-nascidos estudados.

Neste mesmo ano, Leinikki *et al.* (1978), em Helsinki (Finlândia) estudando 191 recém-nascidos, encontraram 3 (1,57%) casos de infecção congênita pelo CMV.

Schopfer *et al.* (1978), em estudo realizado na Costa do Marfim (África), numa casuística de 2032 recém-nascidos, encontraram 28 (1,4%) crianças com infecção congênita pelo CMV. Todos os recém-nascidos infectados não apresentavam sintomas de doença congênita.

Stagno *et al.* (1980 b), em Birmingham (USA), constataram num grupo de 1412 recém-nascidos, filhos de mulheres com nível socioeconômico baixo, uma incidência de 2,2% (31) de infecção congênita pelo CMV. Todos os recém-nascidos infectados estavam assintomáticos.

Em 1980, Montgomery *et al.* (1980), em Houston (USA), observando 954 recém-nascidos, filhos de mulheres primíparas, encontraram 9 casos de infecção congênita. Das crianças infectadas, 7 apresentavam manifestações clínicas ao nascimento.

Larke *et al.* (1980), em Hamilton (Canadá), estudando 15212 recém-nascidos, encontraram 64 (0,42%) casos de infecção congênita pelo CMV. As manifestações clínicas observadas na primeira semana de vida foram prematuridade (11), baixo peso ao nascer (14), hiperbilirrubinemia (12), hepatoesplenomegalia (6), púrpura trombocitopênica (5), pequeno para a idade gestacional-PIG (5), pneumonite (2) e sinais de alteração neurológica (9).

Ahlfors (1982), em Malmo (Suécia), estudando um grupo de 8367 recém-nascidos, observou uma incidência de 0,45% (38) de infecção congênita pelo CMV. Das crianças infectadas 7 apresentaram manifestações clínicas ao nascer. No seguimento clínico dessas crianças por um período de 4 anos, 4 apresentaram alterações neurológicas, sendo 2 do grupo dos sintomáticos e 2 dos assintomáticos.

Pannuti *et al.* (1985), em São Paulo (Brasil), estudaram 1614 recém-nascidos de nível socioeconômico médio e 1156 de nível socioeconômico baixo, utilizando 2 métodos diagnósticos, isolamento do vírus em amostras de urina e detecção de anticorpos IgM específicos para o CMV, detectaram 12 casos de infecção congênita pelo CMV. Todos estavam assintomáticos ao nascimento.

Em 1993, Fowler *et al.* (1993), em Birmingham (USA), relataram os resultados de 11 anos de estudos da infecção congênita pelo CMV, abrangendo o período de 1980 a 1990. Foram estudados 17163 recém-nascidos de um hospital público, com a

predominância de nível socioeconômico baixo, nos quais foi encontrada uma incidência de 1,25% (215) de infecção congênita. Dos 9892 recém-nascidos de um hospital privado, com a predominância de nível socioeconômico médio e alto, observaram uma incidência de 0,53% (52). O percentual de recém-nascidos infectados pelo CMV, que apresentaram sintomatologia sugestiva de infecção congênita ao nascimento, foi de 7,4% dos nascidos no hospital público e 5,8% no hospital privado.

Balcarek *et al.*(1993), em Birmingham (USA), estudando 1870 recém-nascidos observaram uma incidência de 1,7% (31/1870) de infecção congênita pelo CMV, e somente 5 (16,1%) das crianças infectadas apresentavam sintomatologia ao nascimento.

Em Belém, no período de 1991 a 1995, foram encaminhados ao Instituto Evandro Chagas (IEC-FNS) 1179 crianças para investigação de doença congênita, por apresentarem sintomatologia ou seqüelas neurológicas compatíveis. Foram detectados anticorpos IgM específicos para o CMV em 137 dessas crianças ( Elisabeth de Oliveira Santos, comunicação pessoal).

Os estudos prospectivos, revelaram que aproximadamente 90% dos recém-nascidos infectados eram assintomáticos ao nascimento. Nas crianças sintomáticas, as manifestações clínicas podem ser discretas (hepatoesplenomegalia, icterícia, petéquias) ou assumir formas mais graves, evoluindo a óbito em alguns casos (Stagno *et al.*, 1982).

De acordo com Boppana *et al.* (1992) as principais manifestações clínicas do período neonatal, encontradas em 106 crianças com infecção congênita pelo CMV sintomáticas ao nascimento, foram prematuridade (34%), pequeno para a idade gestacional (50%), petéquias (76%), icterícia (67%), hepatoesplenomegalia (60%), púrpura (13%),

microcefalia (54%), hipotonia (27%), diminuição do reflexo de sucção (19%) e convulsões (7%). As principais alterações laboratoriais observadas foram hiperbilirrubinemia (81%), trombocitopenia (77%), aumento das transaminases (83%), hemólises (51%) e aumento das proteínas no líquido (46%).

Ainda na década de 70, tiveram início os estudos de seguimento clínico a longo prazo dos recém-nascidos sintomáticos ao nascimento, para avaliação das seqüelas.

McCracken *et al.* (1969), publicaram os resultados do acompanhamento clínico de 20 recém-nascidos com infecção congênita que apresentavam sintomas ao nascimento. Dessas, 4 evoluíram a óbito nos primeiros meses de vida e 1 aos 4 anos. Das crianças sobreviventes 7 apresentaram seqüelas neurológicas, 1 estenose da válvula pulmonar e 5 tiveram evolução normal. Desse grupo, 2 tiveram acompanhamento somente pelo período de 1 e 3 meses.

Após este relato, diversos outros autores vieram confirmar o efeito devastador da infecção congênita pelo CMV (Stagno *et al.*, 1977b; MacDonald & Tobin, 1978; Pass *et al.*, 1980; Williamson *et al.*, 1982; Saigal *et al.*, 1982; Ahlfors *et al.*, 1983).

Pass *et al.* (1980), observaram 34 crianças que apresentaram, ao nascimento, sinais sugestivos de infecção congênita por CMV. Dentre estas, 10 foram a óbito antes de completar 2 anos de idade e apresentavam graves alterações neurológicas, sendo este um dos fatores determinantes das mortes. Das 24 crianças que sobreviveram, 23 tiveram seguimento clínico durante vários anos para avaliação das seqüelas. Na evolução clínica, 16 apresentaram microcefalia. O desenvolvimento do nível intelectual estava alterado em 14 (61%) sendo 1 com Q.I. entre 50-80, 9 com Q.I.<50 e as 4 restantes com retardo no

desenvolvimento psicomotor. Também foram observadas alterações neuromusculares em 8 (35%) das 23 crianças, entre as quais hemiparesia (1), espasticidade (6) e dificuldades para manipulação de objetos (5). A deficiência auditiva foi caracterizada em 7 (23%) casos. As anormalidades oculares (atrofia ótica e coriorretinite) ocorreram em 5 (22%) das crianças sobreviventes.

De acordo com a literatura, o seguimento clínico dos recém-nascidos totalmente assintomáticos no momento do parto, revelou que 10 a 25% dessas crianças, após alguns anos, apresentaram deficiências auditivas que, em muitos casos, caracterizaram-se por surdez profunda (Reynolds *et al.*, 1974; Hanshaw *et al.*, 1976; Saigal *et al.*, 1982; Ahlfors *et al.*, 1983; Williamson *et al.*, 1992; Boppana *et al.*, 1993). Alguns estudos evidenciaram déficit intelectual (Reynolds *et al.*, 1974; Hanshaw *et al.*, 1976) e distúrbios de comportamento (Williamson *et al.*, 1982).

Assim, tornou-se evidente a necessidade da realização de inquéritos soroepidemiológicos para determinar a suscetibilidade da população à infecção pelo CMV.

Schwebke *et al.* (1995) estudaram um caso de infecção congênita pelo CMV em recém-nascido filho de mãe aidética. A cepa de CMV da mãe e do concepto eram geneticamente idênticas. A criança foi a óbito após o nascimento, com o diagnóstico de pneumonite intersticial e membrana hialina por infecção congênita generalizada. A mãe apresentou infecção primária pelo CMV confirmada laboratorialmente por presença de IgM, 2 anos antes da gravidez, sugerindo uma infecção recorrente durante a gestação. Os autores chamam a atenção que os recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV, filhos de mães

portadoras do HIV, são problemas emergentes que deverão merecer maior atenção dos serviços de saúde.

### 1.3.1. Prevalência de anticorpos específicos para o CMV

Monif *et al.* (1970), na Flórida (USA), estudando 495 gestantes de diferentes níveis socioeconômicos, constataram susceptibilidade à infecção pelo CMV em 26,3% das mulheres negras, de nível socioeconômico baixo, atendidas em hospitais públicos. Nas pacientes caucasianas de níveis socioeconômico baixo e elevado, encontraram susceptibilidade a infecção pelo CMV em 34,8% e 52%, respectivamente.

Um estudo colaborativo publicado em 1970, em Manchester (Inglaterra), revelou que 43% das pacientes que procuraram o atendimento pré-natal eram susceptíveis à infecção pelo CMV (CYTOMEGALOVIRUS..., 1970).

Montgomery *et al.* (1972), em Pittsburg (USA) observaram taxas de susceptibilidade de 17% em um grupo de 70 índias navajas gestantes. Das gestantes caucasianas 48% eram susceptíveis à infecção pelo CMV.

Krech (1973), publicou os resultados de inquéritos soroepidemiológicos realizados em doadores de sangue de mais de 20 países, abrangendo desde regiões subdesenvolvidas até áreas industrializadas. Os níveis de imunidade variaram de 40% nas áreas altamente industrializadas até 100% nos países em desenvolvimento.

No Brasil, Carvalho *et al.* (1976), em São Paulo, relataram os resultados de um inquérito soroepidemiológico em 301 soros de indivíduos normais com a idade variando de 1 mês a 60 anos. A soropositividade foi de 47% no grupo de 1 a 5 meses, provavelmente

pela presença de anticorpos maternos, no grupo de 6 a 11 meses houve uma queda para 26% e ocorreu um aumento progressivo nas outras faixas etárias até atingir uma taxa de positividade de 80% no grupo acima de 50 anos.

Leinikki *et al.* (1978), em Helsinki (Finlândia), observaram que 73% das gestantes (78/103) analisadas eram imunes contra o CMV.

Schopfer *et al.* (1978), em Abidjan (Costa do Marfim), realizaram uma das primeiras pesquisas em um país não desenvolvido. O resultado desta pesquisa mostrou que na faixa etária dos 14 anos, 99,7% da população, apresentava anticorpos específicos para o CMV. Em 158 crianças, de quatro a oito anos, 143 (91%) apresentavam imunidade e nos 495 doadores de sangue a soropositividade foi de 100%.

Cabau *et al.* (1979), em Paris (França), estudando mulheres francesas e imigrantes de diferentes níveis socioeconômicos, observaram que, nas francesas de nível socioeconômico baixo, a soropositividade era de 66,5%, enquanto que no grupo de nível socioeconômico médio somente 47,4% já apresentavam anticorpos. Entre as imigrantes a imunidade para o CMV foi superior a 90%, independente da classe social.

Em Birmingham (USA), Stagno *et al.* (1982), observaram que 60% das gestantes de nível socioeconômico médio apresentavam anticorpos específicos contra o CMV. Enquanto, nas gestantes de nível socioeconômico baixo, foi constatada uma prevalência de imunes de 85%.

Ahlfors (1982), em Malmo (Suécia), estudou 4382 gestantes e observou soropositividade para o CMV em 72% (3164). Do grupo de gestantes susceptíveis à

infecção pelo CMV, foi coletado sangue de 1175 logo após o parto e constatado soroposição (infecção primária) em 1,2% (14).

Palacios *et al.* (1983), em Lima (Peru), estudaram 122 mulheres, sendo 68 de nível socioeconômico alto e 54 de nível socioeconômico baixo. Dentre as primeiras, 75% eram soropositivas para o CMV, enquanto que nas de renda mais baixa a imunidade era de 100%.

Em São Paulo (Brasil) Pannuti *et al.* (1985), estudando mães de nível socioeconômico baixo, observaram uma prevalência de anticorpos para o CMV de 84,4% (151/179). Entretanto, nas mães de nível socioeconômico médio a soropositividade foi de 65,5% (284/427).

Em Houston (USA) Walmus *et al.* (1988), estudando 1989 gestantes de nível socioeconômico médio e elevado, detectaram anticorpos IgG específicos para o CMV em 50% das mulheres.

Vidal *et al.* (1988), em Caracas (Venezuela), estudaram 100 gestantes e constataram presença de anticorpos em 95%.

Linhares *et al.* (1989), em Recife (Brasil), constataram que 78 % das gestantes de nível socioeconômico baixo apresentavam anticorpos específicos ao CMV. Entre as gestantes com nível socioeconômico médio havia 55,7% de imunes.

Prabhakar *et al.* (1991) em estudo realizado na Jamaica em 1986, observaram que 97% das gestantes daquele país eram imunes ao CMV.

Lamy *et al.* (1992), na Bélgica, verificaram que 51,4% (910/1771) das gestantes estudadas eram soropositivas para o CMV.

Neste mesmo ano, Tookey *et al.* (1992), em Londres (Inglaterra), realizaram um estudo da soroprevalência em mais de 20000 gestantes provenientes de 3 hospitais, analisando por grupo étnico. As mulheres brancas apresentaram uma soropositividade de 45,9%, contrastando com os 77,2% e 88,2% de soroprevalência encontradas respectivamente nas negras (africanas e caribenhas) e asiáticas.

### **1.3.2. Infecção congênita pelo CMV em filhos de mulheres com infecção primária e recorrente**

Embil *et al.* (1970), relataram os primeiros casos de infecção congênita pelo CMV diagnosticado em 2 conceptos nascidos de gestações consecutivas, o primeiro filho apresentava manifestações clínicas graves e foi a óbito, e a segunda criança teve o diagnóstico confirmado pelo isolamento do vírus da urina, mas era assintomática.

Krech *et al.* (1971), detectaram mais 3 casos de infecção congênita pelo CMV em gestações sucessivas. Porém, a comunidade científica acatou com certo ceticismo a afirmação que poderia ocorrer a transmissão do CMV ao concepto, durante uma infecção recorrente do vírus.

Posteriormente, Monif *et al.* (1972), estudando 664 mulheres grávidas susceptíveis ao CMV, verificaram que em 4 casos ocorreu infecção primária materna durante a gravidez e transmissão do vírus para o concepto. Das 4 crianças, 2 foram infectadas no segundo trimestre de gravidez e apresentavam manifestações clínicas graves ao nascimento. Os 2 recém-nascidos infectados no terceiro trimestre não apresentaram sintomas sugestivos de infecção congênita no período neonatal.

Stern & Tucker (1973) estudaram 270 gestantes soronegativas para o CMV, com acompanhamento sorológico da primeira consulta do pré-natal até a data do parto, detectando 11 casos de infecção primária durante o período gestacional. Das 11 mulheres infectadas, 5 transmitiram o vírus para o concepto. Nas grávidas soropositivas encontraram reativação da infecção pelo CMV em 2,9% das mulheres de descendência asiática e 0,7% das caucasianas. Nenhum recém-nascido deste último grupo foi infectado.

Stagno *et al.* (1977a) puderam comprovar os achados de Embil *et al.* (1970) e Krech *et al.* (1971), acompanhando 208 mulheres com sorologia positiva CMV antes da gravidez, detectaram 7 (3,4%) casos de infecção congênita no grupo.

Gehrz *et al.* (1977) observaram 4 crianças com infecção congênita pelo CMV, que apresentavam sintomas e detectaram que a imunidade celular específica para o CMV estava deprimida. As mesmas alterações foram observadas nas mães dessas crianças. Starr *et al.* (1979) e Reynolds *et al.* (1979) confirmaram os achados de grupo de Gehrz.

A partir da década de 80, foram realizados estudos em cobaias (Kumar & Prokav, 1983) e camundongos (Baskar *et al.*, 1993; Tsutsui *et al.*, 1993) para tentar esclarecer as alterações que ocorrem na gestante e no seu concepto, durante a transmissão da infecção congênita pelo CMV.

Huang *et al.* (1980) estudaram um grupo de mulheres com imunidade ao CMV, confirmada antes da gravidez e, em 6 casos, ocorreu a transmissão do vírus para o concepto. Os autores, através da técnica da restrição enzimática, constataram que em 5 destes casos o DNA purificado da cepa isolada do recém-nascido era idêntico ao vírus materno, concluindo que ocorreu uma infecção materna recorrente durante o período

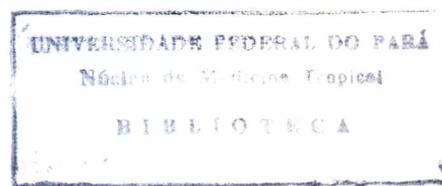
gestacional. Somente, em um dos recém-nascidos foi constatado que o DNA era diferente do materno, confirmando uma reinfecção por outra cepa de CMV durante o período gestacional. Sugerindo, desse modo que, em mulheres imunes, a transmissão do vírus para o recém-nascido acontece, na maioria das vezes, durante a reativação de um vírus latente (infecção recorrente). A reinfecção por uma cepa diferente de CMV ocorre numa frequência bem menor.

Gehrz *et al.* (1981), observaram que em mulheres, com imunidade ao CMV comprovada antes da gravidez, houve uma depressão da resposta proliferativa dos linfócitos de forma mais acentuada no segundo e terceiro trimestre da gestação, durante esta fase pode ocorrer a reativação de um vírus latente com conseqüente transmissão para o concepto.

Stagno *et al.* (1982) estudando gestantes de grupos socioeconômicos distintos, constataram que 40% das mulheres de nível socioeconômico elevado eram soronegativas para o CMV e 17 (1,4%) apresentaram infecção primária durante a gravidez. Das gestantes de nível socioeconômico baixo 15% eram susceptíveis a infecção pelo CMV. Desse grupo 179 mulheres foram acompanhadas sorologicamente até o parto e a soroconversão ocorreu em 4 (2,2%) dos casos. Os autores também observaram que 42% das mulheres com infecção primária durante a gravidez transmitem o vírus para o concepto.

Pass *et al.* (1983) encontraram nas crianças com infecção congênita uma diminuição da resposta blastogênica linfocítica específica ao CMV.

Alford *et al.* (1988) constataram que a resposta dos anticorpos maternos contra o CMV, é mais acentuada em mulheres com infecção primária que infectam o concepto, do que naquelas em que não ocorre a transmissão intra-uterina, sugerindo que as



gestantes, que transmitem o vírus para o recém-nascido, tem um elevado nível de replicação viral.

Lamy *et al.* (1992) em estudo prospectivo realizado na Bélgica abrangendo o período de 1988 até 1990, observaram que 48,6% (861/1771) das gestantes eram soronegativas para o CMV. Desse grupo, 20 (2,3%) apresentaram soroconversão durante a gravidez, das quais 7 foram submetidas a cordocentese e amniocentese, tendo sido isolado CMV do líquido amniótico em 5 casos. A comissão de ética médica optou pelo abortamento nesses 5 casos relatados e nos exames histopatológicos dos conceptos constataram a presença de lesões cerebrais graves.

### 1.3.3. Tratamento e prevenção

Ainda, no início da década de 70, começaram os ensaios terapêuticos, visando encontrar um medicamento eficaz no tratamento das infecções causadas pelo CMV. As substâncias antivirais inicialmente testadas foram idoxuridina (Barton & Tobin, 1970), citosina arabinosídeo (McCracken & Luby, 1972), adenina arabinosídeo (Ch'ien *et al.*, 1974), interferon (Emödi *et al.*, 1976) e aciclovir (Timbury, 1982). Os resultados obtidos foram insatisfatórios pois, o máximo que os pesquisadores conseguiram foi uma supressão temporária da eliminação do vírus na urina das crianças infectadas, durante a vigência do tratamento.

Os resultados satisfatórios no tratamento dos pacientes imunodeprimidos, obtidos com a administração do ganciclovir (Grossberg *et al.*, 1989; Einsele *et al.*, 1991;

Boivin *et al.*, 1993), proporcionaram o início dos estudos para o tratamento da infecção congênita pelo CMV (Attard-Montalto *et al.*, 1993; Nigro *et al.*, 1994).

Nigro *et al.* (1994), estudando 12 recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV que apresentavam manifestações clínicas ao nascimento, realizaram um ensaio terapêutico com essa substância antiviral. As crianças foram divididas em 2 grupos de 6. No primeiro grupo, o ganciclovir foi administrado por um período de 2 semanas e no segundo durante 3 meses. Os resultados foram satisfatórios no segundo grupo, onde ocorreu uma diminuição da intensidade das manifestações clínicas em algumas crianças. Entretanto, ainda serão necessários novas avaliações para verificar se o tratamento da infecção congênita pelo CMV é viável, uma vez que os medicamentos podem causar efeitos colaterais que inviabilizam a sua utilização em recém-nascidos.

Na década de 70, nenhum tratamento da infecção pelo CMV foi satisfatório, fato que proporcionou o início das pesquisas para produção de uma vacina. As primeiras preparações vacinais, foram produzidas com vírus vivos atenuados, e obtiveram uma boa resposta na produção de anticorpos (Elek & Stern, 1974; Plotkin *et al.*, 1975).

Porém, desde o início, os pesquisadores tiveram preocupação com o potencial oncogênico da vacina do vírus vivo atenuado, principalmente pelo fato do CMV pertencer ao grupo dos herpesvírus que está relacionado à neoplasias em animais e humanos (McDougall & Harnden, 1974; Pagano & Huang, 1974; Stern, 1977; Phillips, 1977).

Nos últimos anos, foram realizados estudos comparando a resposta imunológica das vacinas Towne e Toledo. Os resultados são semelhantes aos de uma infecção natural pelo CMV (Plotkin *et al.*, 1989; Gönczöl *et al.*, 1989). Entretanto, as

vacinas apesar de induzirem a produção de anticorpos, promovem imunidade insuficiente para prevenir reinfecções.

O desenvolvimento de uma vacina contra o CMV, é importante para reduzir o número de infecções graves em pacientes transplantados e diminuir os riscos de infecção congênita sintomática (Plotkin *et al.*, 1989).

#### 1.4. ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL

O atendimento pré-natal adequado é importante para a prevenção de diversas situações que podem afetar a gestante e seu conceito pois, permite diagnosticar precocemente infecções e é necessário para prever partos de alto risco.

Estudos realizados no Ceará, nos anos de 1987 e 1990, demonstraram que naquele estado, uma em cada três gestantes não realizou nenhuma consulta durante a gestação. Nos estados de Sergipe e Rio Grande do Norte, em 1989, foi constatado que uma em cada seis mulheres não consultou o médico durante a gravidez (CRIANÇAS e adolescentes, 1992). Nesse mesmo ano, 63,8% das mulheres da zona rural brasileira não tinham recebido atenção pré-natal (Monteiro, 1992).

Entre as adolescentes, os riscos de complicações durante a gravidez e o parto são mais freqüentes. Se o corpo da gestante é pequeno, podem ocorrer complicações na passagem do feto pelo canal do parto. A mortalidade é mais elevada entre os filhos deste grupo de mães, principalmente pela falta de maturidade para assumir plenamente este papel (Correia & McAuliffe, 1993).

Estudos revelaram que entre os fatores determinantes do nascimento de crianças com baixo peso ao nascer (BPN), estão a desnutrição materna, infecções maternas, anemias, gestações freqüentes e fumo. A incidência de BPN também está associada ao nível socioeconômico da família. Em crianças provenientes de famílias com renda igual ou inferior a um salário mínimo mensal per capita, o risco de nascer com peso baixo é o dobro se comparado ao grupo de crianças cujas famílias apresentam renda maior que 3 salários mínimos. Nas mulheres com menos de 5 anos de estudo o risco de ocorrência de crianças BPN é 2,6 vezes maior do que entre as mulheres que tinham 8 ou mais anos de estudo (CRIANÇAS e adolescentes, 1992).

A Índia, é um dos países que apresenta a maior taxa de crianças com baixo peso ao nascimento 30%, enquanto a Suécia com 4%, é dos que apresentam menor proporção (CRIANÇAS e adolescentes, 1992). No Brasil, aproximadamente 10% dos recém-nascidos apresentam baixo peso. Indicando que o país está numa faixa considerada entre média e alta (Monteiro, 1992).

## 1.5. OBJETIVOS

### 1.5.1. Geral

Estabelecer a importância da infecção congênita pelo CMV na maternidade da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

### 1.5.2. Específicos

Avaliar a prevalência de anticorpos contra o CMV nas mães dos recém-nascidos estudados.

1. MATERIAIS Comparar dois métodos de diagnóstico para a infecção congênita pelo CMV: pesquisa de anticorpos pelo método imunoenzimático ELISA e isolamento do vírus em cultura primária de fibroblastos de prepúcio humano.

Verificar o nível de assistência pré-natal das gestantes atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

do Brasil e p Identificar o nível socioeconômico das parturientes internadas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. CASUÍSTICA

O Hospital da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCM-PA) tem sido tradicionalmente uma instituição de saúde que atende a população de baixa renda de Belém e pessoas oriundas do interior do Estado (Fig. 1).



Fig. 1 - Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

A pesquisa da incidência de infecção congênita pelo CMV foi desenvolvida na maternidade desse hospital (Fig. 2), no período de 1994-95, onde as gestantes atendidas eram informadas acerca do estudo e, em caso de concordância, assinavam um termo de consentimento (Anexo 1).



Fig. 2 - Enfermaria de obstetrícia da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

A história clínica perinatal seguiu o modelo das fichas da maternidade da FSCM-PA, dos formulários das pesquisas realizadas pelo Setor de Virologia da Coordenação de Ecologia Humana e Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas/Fundação Nacional de Saúde (COEHMA-IEC/FNS) e da ficha clínica utilizada por Pannuti (1983), na qual constam informações sobre escolaridade, nível de renda, condições de habitação, dados clínicos e obstétricos (Anexo 2).

A avaliação do nível socioeconômico foi baseado na renda das mulheres e dos cônjuges, utilizando os critérios do IBGE (CARACTERÍSTICAS demográficas..., 1994). Também foram incluídos na análise os dados referentes ao domicílio, número de pessoas que moram na casa, nível de escolaridade, estado civil.

O estado civil das gestantes foi classificado em solteiras, casadas (união registrada em cartório), união consensual (união não oficializada em cartório), separada, divorciada e viúva.

O nível de escolaridade, assim como a ocupação da gestante e do cônjuge, foram avaliados segundo critérios do IBGE (CARACTERÍSTICAS demográficas..., 1994), conforme modelo abaixo:

#### Nível de escolaridade

- sem instrução ou menos de 1 ano de estudo
- 1 a 3 anos de estudo
- 4 a 7 anos de estudo
- 8 a 10 anos de estudo
- 11 ou mais anos de estudo

## Grupos de ocupação

agroextrativismo

indústria de transformação e construção civil

técnica, científica, artística e assemelhada

comércio

prestação de serviços

administrativa

transporte e comunicação

do lar (para as mulheres que trabalham somente em casa)

outras ocupações

A ficha da história clínica perinatal foi aplicada a 663 gestantes internadas na maternidade da FSCM-PA, no período de novembro de 1994 a maio de 1995, cujos filhos foram incluídos no estudo. A entrevista individual com as puérperas foi efetuada logo após a coleta do material.

Avaliamos a história obstétrica da gestante através de dados obtidos na entrevista pessoal e do prontuário da maternidade da FSCM-PA.

### 2.1.1. Recém-nascidos estudados

Foram estudados um total de 663 recém-nascidos dos quais se pode obter uma amostra de sangue do cordão umbilical. A coleta da saliva ocorreu após as primeiras 24 horas de vida, para evitar contaminação da saliva pelo vírus materno durante a passagem pelo canal do parto (Balcarek *et al.*, 1993). Nos partos gemelares, a equipe de enfermagem

da FSCM-PA coletou sangue do cordão umbilical de somente um dos recém-nascidos, provocando a exclusão de uma das crianças da amostra. Durante o período de coleta ocorreram 3167 partos, portanto 20,9% das crianças foram incluídas no estudo.

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. Coleta do material

#### 2.2.1.1. Sangue

As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa nas mães, 24 horas após o parto. A coleta do cordão umbilical foi feita pela equipe de enfermagem do hospital, ainda na sala de parto. Após a coleta as amostras foram transportadas ao laboratório de Virologia da COEHMA-IEC/FNS.

#### a) Processamento da amostra

- Esperar a retração do coágulo;
- Decantar o soro;
- Centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos;
- Transferir para frasco com tampa;
- Estocar a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a realização dos testes.

### 2.2.1.2. Saliva

As amostras de saliva foram colhidas com *swab* estéril, o qual foi imediatamente colocado em um tubo de ensaio estéril contendo 1,5 ml de meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), enriquecido com 10% de soro bovino fetal (SBF) e suplementado com solução de antibióticos (penicilina G cristalina 200 U/ml, estreptomicina 200 µg/ml) e antifúngico (anfotericina-B 5 µg/ml). Fechado com tampa de borracha para em seguida ser transportado ao laboratório de Virologia da COEHMA-IEC/FNS em caixa de isopor contendo gelo.

#### a) Processamento da amostra em uma capela de fluxo laminar

- Agitar o *swab* no meio de transporte, comprimindo-o contra as paredes do tubo para melhor aproveitamento do material;
- Centrifugar no próprio tubo de coleta, mantendo fechado para evitar contaminação, a 1500 rpm durante 10 minutos à temperatura de 4°C;
- Transferir o sobrenadante para um frasco estéril com tampa rosqueada;
- Inocular 0,2 ml do sobrenadante em tubos de cultura contendo monocamada de células primárias de fibroblastos.

### 2.2.1.3. Urina

As amostras de urina foram coletadas somente das crianças onde o CMV foi previamente isolado da saliva. A urina foi coletada em saco coletor apropriado, e

imediatamente transportada ao laboratório em gelo. Não foi possível coletar o material de 2 recém-nascidos que foram a óbito, durante a primeira semana de vida.

a) Processamento da amostra em capela de fluxo laminar

- Transferir a urina para um tubo de centrifuga de 10 ml estéril;
- Centrifugar a 1500 rpm por um período de 10 minutos à temperatura de 4°C;
- Esterilizar o sobrenadante através de membrana Millipore 0,22µ;
- Armazenar em frasco estéril;
- Ajustar o pH com solução de bicarbonato de sódio 4,4%;
- Inocular 0,2 ml desse sobrenadante nos tubos contendo monocamada de fibroblastos de prepúcio humano, mantidos a 37°C.

## 2.2.2. Isolamento do citomegalovírus

### 2.2.2.1. Sistema celular

Utilizou-se culturas primárias de fibroblastos humanos obtidos a partir de prepúcios de crianças postectomizadas. Essas culturas fazem parte do banco de cultura de células primárias da COEHMA-IEC/FNS. (Fig. 3 a 5).

Os prepúcios eram coletados no centro cirúrgico da Clínica Pediátrica do Pará, em frasco estéril contendo meio de cultura DMEM enriquecido com SBF e suplementado com solução de antibióticos e antifúngico. O material foi transportado para o laboratório de cultura de tecidos da COEHMA-IEC/FNS em gelo.

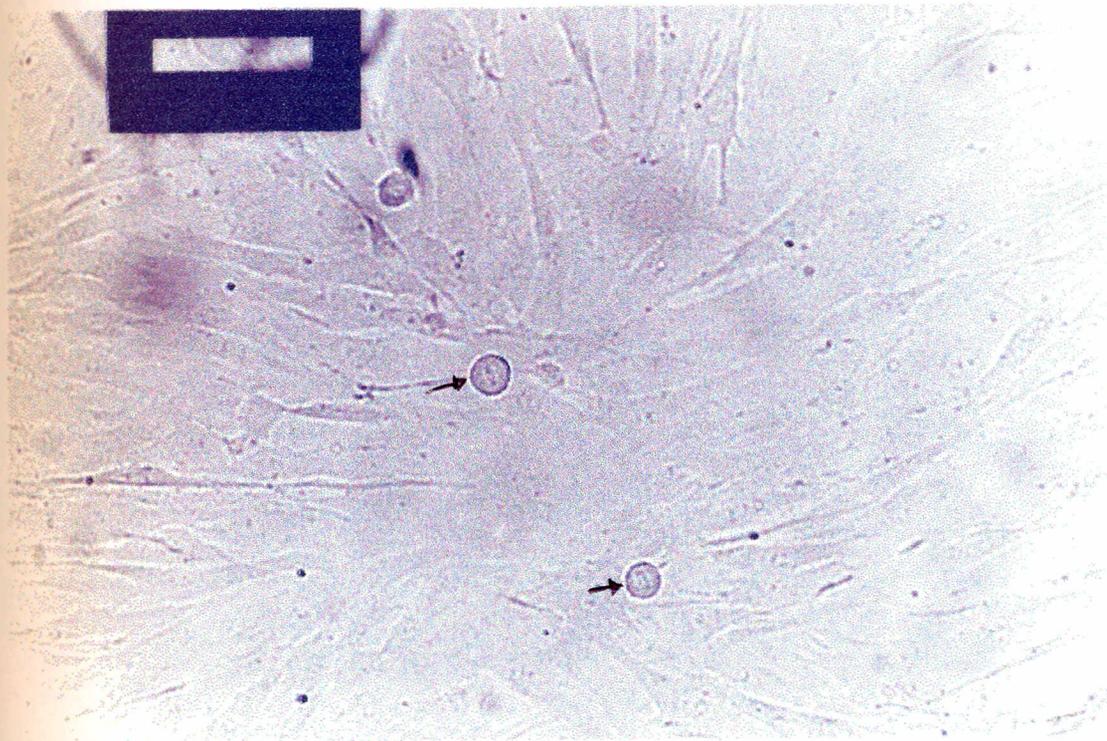


Fig. 3 - Cultura primária, diplóide ( $2n$  46, XY), de fibroblasto de prepúcio humano.

As setas indicam células em divisão celular

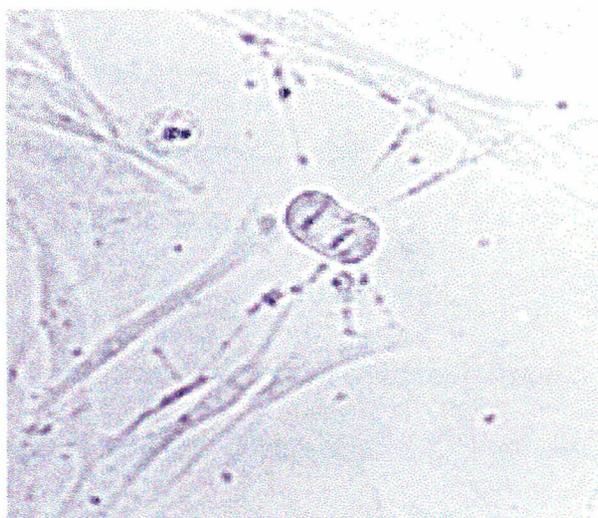


Fig. 4 - Fibroblasto de prepúcio humano em divisão celular

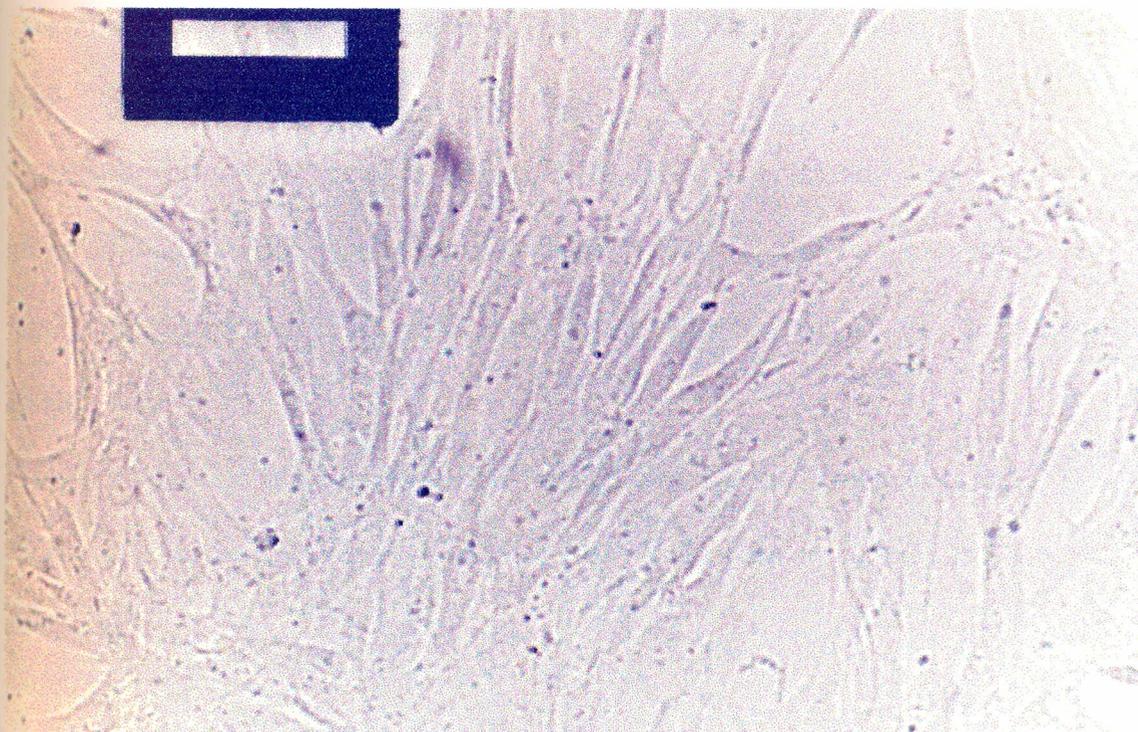


Fig. 5 - Fibroblastos de prepúcio humano

#### 2.2.2.2. Obtenção das culturas primárias de fibroblasto de prepúcio humano

##### a) Técnica do *explant* (Earle, 1954), com modificações

- Retirar o prepúcio do frasco dentro de uma capela de fluxo laminar;
- Lavar o prepúcio com solução de Hanks sem cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4$ );
- Cortar em fragmentos de  $\pm 0,5$  cm com tesoura cirúrgica curva fina;
- Transferir os fragmentos de prepúcio individualmente para as garrafas plásticas de  $25 \text{ cm}^2$  de área com a superfície previamente umedecida com SBF;

- Colocar a garrafa contendo o prepúcio com a superfície de contato virada para cima durante 10 a 15 minutos, para fixar os fragmentos;
- Acrescentar 1,5 ml de meio de cultura F-10 HAM suplementado com antibióticos (penicilina G cristalina 100 U/ml e estreptomicina 100 µg/ml) e antifúngico (anfotericina-B 1µg/ml), enriquecido com 20% de SBF, pH 7,4 - 7,6, ajustado com solução de bicarbonato de sódio a 2,8%;
- Transferir as garrafas para uma estufa a 37°C para crescimento da monocamada;
- Tripsinizar e repicar as células em tubos de ensaio e garrafas de cultura, para inoculação das amostras.

#### b) Técnica da tripsinização (Sharon, 1976)

- Lavar os prepúcios em solução de Hanks;
- Picotar em fragmentos de  $\pm 0,5$  cm com tesoura cirúrgica curva fina;
- Transferir os fragmentos para um erlenmeyer contendo 50 ml de solução de tripsina a 0,25% diluída em Hanks;
- Deixar à temperatura de 4°C por um período de 14 horas;
- Levar ao banho-maria a 37°C durante 30 minutos;
- Colocar em agitador magnético 30 minutos na menor velocidade possível;
- Filtrar com gaze estéril;
- Centrifugar a 2000 rpm por 10 minutos;
- Decantar o sobrenadante e acrescentar Hanks;

- Lavar 3 vezes através de sucessivas centrifugações, decantação do sobrenadante e suspensão em Hanks;
- Acrescentar ao sedimento de células meio de cultura F-10 HAM suplementado com solução de antibióticos e antifúngico, enriquecido com 20% de SBF;
- Distribuir a suspensão de células em garrafas plásticas com 25 cm<sup>2</sup> de área;
- Esperar o crescimento da monocamada;
- Tripsinizar e preparar tubos ou garrafas para inoculação.

c) Repique das células

- Separar as garrafas de cultura com células em monocamada confluyente (Fig. 6);
- Retirar o meio de cultura;
- Lavar a camada celular com Hanks;
- Desprezar o Hanks;
- Acrescentar uma solução de tripsina (Sigma) a 0,125% e EDTA (Sigma) a 0,02% em Hanks, no lado oposto a camada celular;
- Levar ao invertoscópio (Axiovert 135 MC 80 ZEISS) e observar o início do desprendimento das células;
- Retirar imediatamente a solução de tripsina;
- Acrescentar 2 ml de meio de cultura F-10 HAM completo;
- Descolar as células da superfície através de batidas sucessivas nas laterais da garrafa;
- Acrescentar meio de cultura F-10 HAM completo;
- Distribuir em garrafas ou tubos de ensaio 16x150 mm para crescimento celular.

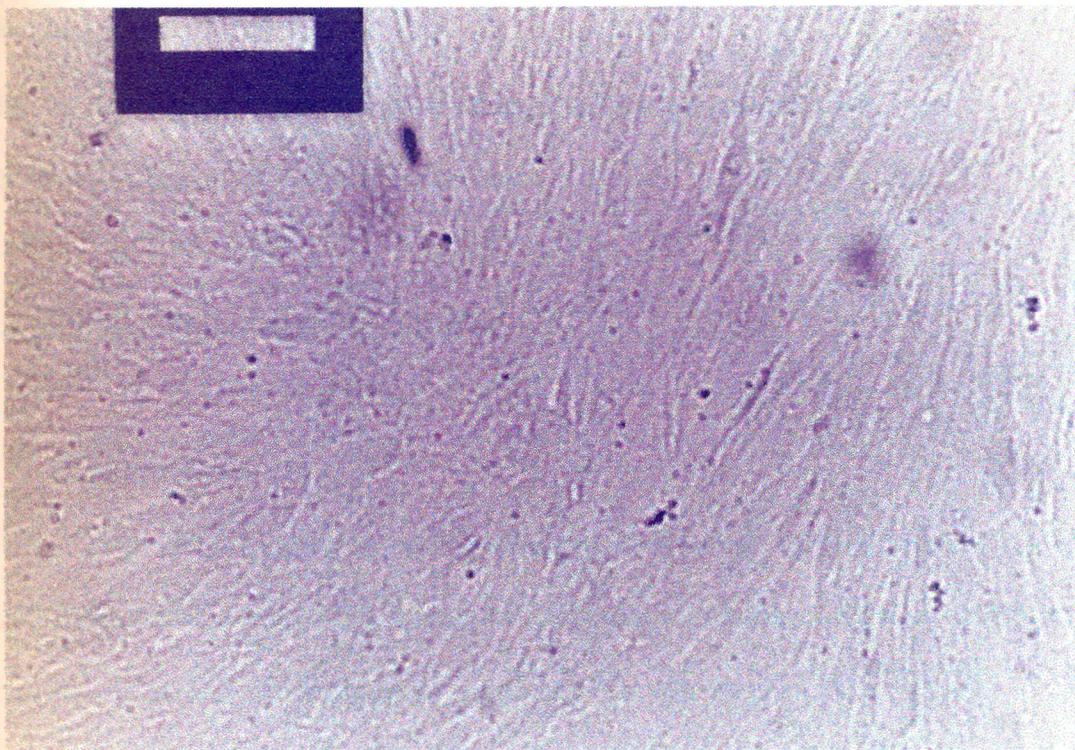


Fig. 6 - Monocamada de fibroblastos de prepúcio humano

#### 2.2.2.3. Inóculo

- Separar os tubos de ensaio contendo monocamada confluyente de fibroblastos de prepúcio humano;
- Desprezar o meio de cultura;
- Inocular em cada tubo 0,2 ml da amostra previamente processada;
- Incubar em estufa a 37°C durante 1 hora;
- Acrescentar 1,5 ml de meio de manutenção F-10 suplementado com solução de antibióticos (penicilina G cristalina 100 U/ml, estreptomicina 100µg/ml) e antifúngico (anfotericina-B 1µg/ml), enriquecido com 2% de SBF;

- Deixar em estufa a 37°C;
- Observar ao invertoscópio 2 vezes por semana durante um período de 30 dias;
- Trocar o meio de cultura 2 vezes por semana.

### 2.2.3. Identificação das amostras isoladas

#### 2.2.3.1. Efeito citopático

A identificação das amostras isoladas foi baseada no aparecimento do efeito citopático característico do CMV. As células infectadas apresentam inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas provocando um aumento de volume da célula afetada. O efeito citopático é focal e de progressão lenta (Reynolds *et al.*, 1979).

#### 2.2.3.2. Imunofluorescência indireta

Para confirmação dos casos de CMV isolados, além da observação do efeito citopático, as amostras foram submetidas a reação de imunofluorescência (Reynolds *et al.*, 1979; Candeias, 1996).

##### a) Preparo das lâminas

- Inocular as amostras isoladas em garrafas plásticas com 25 cm<sup>2</sup> de área contendo monocamada confluyente de fibroblastos de prepúcio humano;
- Observar as células diariamente ao invertoscópio;
- Tripsinizar as células quando atingirem  $\pm 50\%$  de efeito citopático;



- Acrescentar PBS pH 7,2;
- Centrifugar a 1500 rpm durante 10 minutos;
- Lavar com PBS;
- Repetir a centrifugação e lavagem 3 vezes;
- Acrescentar uma pequena quantidade de PBS ao sedimento de células;
- Colocar uma gota da suspensão de células em cada círculo da lâmina de imunofluorescência;
- Secar a lâmina ao ar;
- Fixar em recipiente com acetona a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos;
- Armazenar a  $-70^{\circ}\text{C}$  até a leitura;
- Preparar células normais para controle negativo seguindo os mesmas etapas descritas, com exceção da primeira.

#### b) Reação

- Retirar as lâminas do freezer e deixar a temperatura ambiente para secar;
- Colocar uma gota de soro contendo anticorpos IgM específicos para o CMV em cada círculo da lâmina com células infectadas e normais;
- Incubar em câmara úmida a uma temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos;
- Lavar as lâminas 2 vezes em recipiente contendo PBS durante 10 minutos;
- Adicionar em cada círculo da lâmina uma gota do conjugado, anticorpos IgM ligados à fluoresceína (Behring) na diluição de 1/20 em solução de azul de Evans a 0,1% diluído em PBS com pH 7,2, em cada círculo das lâminas;

- Incubar a 37°C em câmara úmida durante 30 minutos;
- Lavar 2 vezes em PBS por 10 minutos;
- Montar as lâminas em glicerina tamponada a 10% em PBS com pH 7,2.

#### c) Leitura

A leitura foi realizada no microscópio fluorescente com aumento de 150 a 250 vezes e demonstra positividade pelo surgimento de áreas fluorescentes verde-maçã, intranucleares, representando as inclusões características do CMV.

### 2.2.4. Dosagem de anticorpos específicos para o citomegalovírus

Os soros foram testados para a pesquisa de anticorpos IgG ou IgM, pelo método imunoenzimático ELISA (Benjamin, 1979; Stagno *et al.*, 1985; Nielsen *et al.*, 1986; Demmler *et al.*, 1986), usando se *kit* do teste Vironostika anti-CMV II (Organon Teknika) para a pesquisa de IgG e Vironostika anti-CMV IgM II (Organon Teknika).

#### 2.2.4.1. Pesquisa de anticorpos IgG

O *kit* de teste Vironostika anti-CMV II é composto por 2 suportes contendo 12 tiras de microelisa com 8 escavações em U recobertos com uma imunoglobulina anti-citomegalovírus monoclonal, produzida em ratos.

a) Princípio do teste:

O teste Vironostika anti-CMV II é baseado no princípio do *sandwich*. As cavidades do microelisa são recobertas com anti-CMV monoclonal de rato. O antígeno de CMV inativado é acrescentado às cavidades, fixando-se ao anticorpo e formando a fase sólida antígeno-anticorpo. Em seguida, adiciona-se a amostra na cavidade. Se na mesma estiver presente o CMV, complexos imunes serão formados entre o anticorpo da amostra e o antígeno-anticorpo em fase sólida.

Posteriormente acrescenta-se imunoglobulina anti-humana de ovelha, marcada com peroxidase (HRP). Este anticorpo marcado se fixará ao complexo anticorpo-antígeno-anticorpo. A incubação com substrato enzimático produzirá uma coloração azul na cavidade da placa, que se transformará em amarelo no momento da parada da reação com ácido sulfúrico. A intensidade da cor será proporcional à concentração de anti-CMV da amostra.

b) Execução do teste

- Retirar o *kit* da refrigeração e deixar à temperatura ambiente;
- Descongelar as amostras;
- Preparar o tampão fosfato na diluição 1:25 com água destilada, no mínimo 100 ml para cada tira de microelisa;
- Preparar o antígeno acrescentando 2,6 ml de tampão fosfato em cada frasco (1 frasco para cada 2 tiras);

- Esperar 5 minutos para a completa diluição, misturar o conteúdo de todos os frascos e homogeneizar;
- Acrescentar 100  $\mu$ l do antígeno diluído em cada escavação, cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C durante 60 minutos;
- Preparar o diluente da amostra na proporção de 1:100 com solução de tampão fosfato (10 ml para cada tira);
- Diluir as amostras 1:100 com o diluente da amostra em tubo de ensaio 12x75 e homogeneizar;
- Diluir os controles negativo, positivo e fortemente positivo na proporção de 1:10 com o diluente da amostra (20  $\mu$ l do controle com 180  $\mu$ l do diluente da amostra) e agitar;
- Aspirar o antígeno contido nas escavações e fazer 4 lavagens sucessivas com tampão fosfato no lavador automático (Washer 400 Microwell System da Organon Teknika);
- Adicionar 100  $\mu$ l das amostras previamente diluídas e dos controles nas escavações correspondentes, cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C durante 60 minutos;
- Aspirar o conteúdo das escavações e lavar 4 vezes com solução tampão;
- Preparar o conjugado durante a fase de lavagem. Acrescentar 2,6 ml de tampão fosfato em cada frasco de conjugado (1 frasco para cada 2 tiras), misturar o conteúdo dos frascos e homogeneizar;
- Pipetar 100  $\mu$ l do conjugado em cada escavação, cobrir com nova fita adesiva e incubar a 37°C durante 60 minutos;
- Aspirar e lavar 4 vezes;

- Preparar a solução de substrato de TMB, usando solução de TMB (tetrametilbenzidina em ácido cítrico) e peróxido de uréia na diluição de 1:1 (2 ml para cada 2 tiras);
- Adicionar 100 µl do substrato de TMB em cada escavação, cobrir com fita adesiva e incubar durante 30 minutos a uma temperatura de 20 a 25°C;
- Acrescentar 100 µl da solução de parada (ácido sulfúrico 1 mol/l) em cada escavação;
- Fazer a leitura fotométrica.

#### c) Leitura

A leitura fotométrica foi procedida usando-se o espectrofotômetro (Reader 210 Organon Teknika) através de filtro de 450 nm. Para a interpretação dos resultados primeiramente calculou-se o *cut-off* (ponto de corte que separa os resultados positivos dos negativos), usando a seguinte fórmula  $0,5(N+P)$ , onde N é o resultado da leitura fotométrica do controle negativo e P do controle positivo. Considerou-se uma amostra positiva para anticorpos IgG quando o resultado da leitura foi  $\geq$  ao valor do *cut-off* e negativa quando o valor era  $<$  que o do *cut-off*. Os valores quantitativos eram obtidos através de uma linha de calibração. A leitura para a pesquisa de anticorpos IgM segue o mesmo padrão.

#### 2.2.4.2. Pesquisa de anticorpos IgM

O *kit* do teste Vironostika anti-CMV IgM II (Organon Teknika) é composto por 1 ou 2 suportes contendo 12 tiras de microelisa com 8 escavações em U recobertos com anticorpos anti-IgM humanos.

a) Princípio do teste:

O teste Vironostika anti-CMV IgM II é um método imunoenzimático ELISA, baseado no princípio do *sandwich* com captura de anticorpos.

As cavidades da placa de microelisa são recobertas com anticorpos ovinos contra uma imunoglobulina humana M, que corresponde a fase sólida (anti-IgM). As amostras a serem investigadas serão incubadas nas cavidades e todos os anticorpos tipo IgM presentes na amostra se unirão ao anticorpo em fase sólida, presente na placa. Em seguida, adiciona-se antígeno do CMV e um conjugado de anticorpos monoclonais anti-CMV, marcados com peroxidase (HRP).

Em caso de reação positiva, esse antígeno e o anticorpo marcado, misturam-se com o complexo de anti-IgM em fase sólida formado anteriormente. A seguir as amostras serão incubadas com substrato enzimático produzindo uma coloração azul nas cavidades da placa, que se transformará em amarelo quando parar a reação com ácido sulfúrico. A intensidade da coloração é proporcional à concentração de anticorpos anti-CMV tipo IgM nas amostras.

b) Execução do teste

- Retirar o *kit* da refrigeração e deixar a temperatura ambiente;
- Descongelar as amostras;
- Preparar a solução de tampão fosfato na diluição 1:25 com água destilada (100 ml para cada tira de microelisa);

- Diluir os soros dos recém-nascidos na proporção de 1:20 com tampão fosfato e as amostras maternas na diluição de 1:101, com o mesmo tampão fosfato;
- Fazer a diluição dos controles na razão de 1:10 usando tampão fosfato;
- Pipetar 100 µl das amostras e dos controles nas suas respectivas escavações, cobrir com fita adesiva apropriada e incubar a 37°C durante 60 minutos;
- Aspirar e lavar 4 vezes;
- Preparar a solução do antígeno/conjugado acrescentando 2,6 ml de tampão fosfato em cada frasco;
- Adicionar 100 µl do antígeno/conjugado nas escavações, cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C durante 60 minutos;
- Preparar a solução de substrato de TMB, utilizando 0,75 ml de TMB e 0,75 ml de peróxido de uréia para cada tira;
- Submeter a 4 novas lavagens;
- Acrescentar 100 µl do substrato de TMB nas escavações, cobrir com fita adesiva e incubar durante 30 minutos à temperatura de 18 a 25°C;
- Parar a reação acrescentando 100 µl de ácido sulfúrico em cada escavação;
- Fazer a leitura fotométrica.

### 2.3. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Usamos o Teste de McNemar dos Pares Discordantes (Berquó *et al.*, 1981) para avaliação de duas incidências e o Teste do Qui-Quadrado-Homogeneidade

(Beigelman, 1991) para comparação da incidência de várias amostras. Para o cálculo da média, variância e desvio padrão foi utilizado o programa estatístico Epi Info Versão 6 (Dean *et al.*, 1994).

### 3. RESULTADOS

Foram estudadas um total de 663 gestantes e 663 recém-nascidos. Quanto ao estado civil, observou-se que 26,8% das puérperas eram solteiras; 16,7% casadas; 55,8% união consensual e 0,7% eram divorciadas ou separadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Estado civil de 663 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Estado civil	Nº	%
solteira	178	26,8
casada	111	16,7
união consensual	370	55,8
separada/divorciada	4	0,7
Total	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

O nível de escolaridade das gestantes, mostrado na Tabela 2, revelou 4,8% sem instrução ou com menos de 1 ano de estudo. A média da escolaridade foi de 4 a 7 anos de estudo, numa proporção de 54,6%. Nenhuma das mulheres entrevistadas havia cursado o terceiro grau. A somatória dos grupos de 1 a 3 anos de estudo com o de 4 a 7 anos, revelou que 68,8% das mulheres não concluíram o primeiro grau.

A escolaridade dos cônjuges de 481 puérperas está demonstrada na Tabela 3, observamos 5,8% sem instrução ou menos de um ano de estudo; 13,5% com 1 a 3 anos de estudo; 43,3% de 4 a 7 anos; 24,7% de 8 a 10 anos e 10,0% com 11 ou mais anos.

Tabela 2 - Escolaridade de 663 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Anos de estudo	Nº	%
Sem instrução ou menos de 1 ano	32	4,8
1 a 3 anos	94	14,2
4 a 7 anos	362	54,6
8 a 10 anos	122	18,4
11 ou mais anos	48	7,2
ignorado	5	0,8
Total	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Tabela 3 - Escolaridade dos cônjuges de 481 gestantes da FSCM-PA, atendidas no período de 1994 a 1995.

Anos de estudo	Nº	%
Sem instrução ou menos de 1 ano	28	5,8
1 a 3 anos	65	13,5
4 a 7 anos	208	43,3
8 a 10 anos	119	24,7
11 ou mais anos	48	10,0
ignorado	13	2,7
Total	481	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

De acordo com o estado civil e o nível de ocupação na Tabela 4, verificamos que 11,3% das gestantes têm trabalho remunerado. Do grupo das mães que se identificaram como solteiras, somente 16,9% possuem renda própria.

Tabela 4 - Nível de ocupação de 663 gestantes da FSCM-PA, segundo o estado civil, atendidas no período de 1994 a 1995..

Estado civil	Com trabalho remunerado		Sem trabalho remunerado		Total N°
	N°	%	N°	%	
solteira	30	16,9	148	83,1	178
casada	23	20,7	88	79,3	111
união consensual	22	5,9	348	94,1	370
separada/divorciada	0	0,0	4	100,0	4
Total	75	11,3	588	88,7	663

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

As ocupações remuneradas mais referidas pelas puérperas (Tabela 5) foram prestação de serviços (49,3%), trabalhadoras do comércio (18,7%), técnico-científico (17,3%) e no grupo de indústria de transformação (6,7%). No grupo de prestação de serviços todas as mulheres são empregadas domésticas e, no técnico-científico as profissões mais frequentes são professora e auxiliar de enfermagem.

Os principais grupos de ocupação dos 481 cônjuges (Tabela 6) foram indústria de transformação (40,3%), trabalhadores do comércio (14,3%), agroextrativismo (7,5%), transporte e comunicação (6,7%), prestação de serviços (6,2%) e outras ocupações

(17,0%). A ocupação mais freqüente na indústria de transformação é servente de pedreiro.

No grupo de outras ocupações, destaca-se o elevado percentual de vigias.

Tabela 5 - Grupos de ocupação de 75 gestantes, atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Grupos de ocupação	Nº	%
Agroextrativismo	2	2,7
Indústria de transformação	5	6,7
Técnica, científica, artística	13	17,3
Comércio	14	18,7
Prestação de serviços	37	49,3
Administrativa	1	1,3
Transporte e comunicação	2	2,7
Outras ocupações	1	1,3
Total	75	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Tabela 6 - Grupos de ocupação dos cônjuges de 481 gestantes da FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Grupos de ocupação	Nº	%
Agroextrativismo	36	7,5
Indústria de transformação	194	40,3
Técnica, científica, artística	16	3,3
Comércio	69	14,3
Prestação de serviços	30	6,2
Administrativa	6	1,2
Transporte e comunicação	32	6,7
Outras ocupações	82	17,0
Não informado	16	3,3
Total	481	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC-FNS

Em relação a renda familiar (Tabela 7) observamos que 439 (66,2%) famílias possuem renda de 1 salário mínimo, 50 (7,5%) renda de 2 salários mínimos, entretanto 152 (22,9%) declararam não ter rendimento próprio. O grupo sem rendimento é composto por 148 mulheres solteiras, 3 separadas e 1 divorciada.

Tabela 7 - Renda familiar\* em salários mínimos, de 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995

Renda familiar	Nº	%
1 salário mínimo	439	66,2
2 salários mínimos	50	7,5
3 salários mínimos	6	0,9
4 salários mínimos	1	0,2
Sem rendimento	152	22,9
Não informado	15	2,3
Total	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

\* Renda restrita ao grupo familiar composto por marido, mulher e filhos.

Os dados relativos às condições sanitárias dos 663 domicílios podem ser vistos na Tabela 8. Em relação ao tipo de moradia observou-se que 62,6% moravam em casa de madeira e 35,8% em casa de alvenaria.

A fonte de abastecimento de água (Tabela 8) em 190 (28,7%) dos domicílios é proveniente de poço, porém 454 (68,5%) estão ligados à rede geral de abastecimento.

Podemos observar também na Tabela 8 que 34,4% não realizam tratamento domiciliar da água, o que é realizado somente em 65,4% dos domicílios. Os tratamentos

mais freqüentes são fervura (31,4%), filtração (23,8%) e uso regular de hipoclorito de sódio (9,4%).

Além disso, em relação ao destino dos dejetos (Tabela 8) em 43,3% das residências é utilizada fossa rudimentar. A fossa séptica foi encontrada em 52,8%, e 2% não possuem instalação sanitária de qualquer tipo. Nenhuma das residências está ligada à rede de esgotos da cidade.

Tabela 8 - Condições sanitárias dos domicílios das 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Características	Nº	%
<b>Tipo de moradia</b>		
madeira	414	62,6
alvenaria	238	35,8
mista	4	0,6
outro	7	1,0
<b>Fonte de abastecimento de água</b>		
poço	190	28,7
rede geral	454	68,5
rio	16	2,4
outro	3	0,4
<b>Tipo de tratamento domiciliar da água</b>		
sem tratamento	227	34,2
fervida	208	31,4
filtrada	158	23,8
hipoclorito	62	9,4
outros	8	1,2
<b>Destino dos dejetos</b>		
fossa rudimentar	287	43,2
fossa séptica	350	52,8
não possuem instalação sanitária	13	2,0
não informado	13	2,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Na Fig. 7 pode-se observar que 45,5% das puérperas possuem casa própria, 37,6% moram em casa cedida e 15,5% residem em casa alugada.

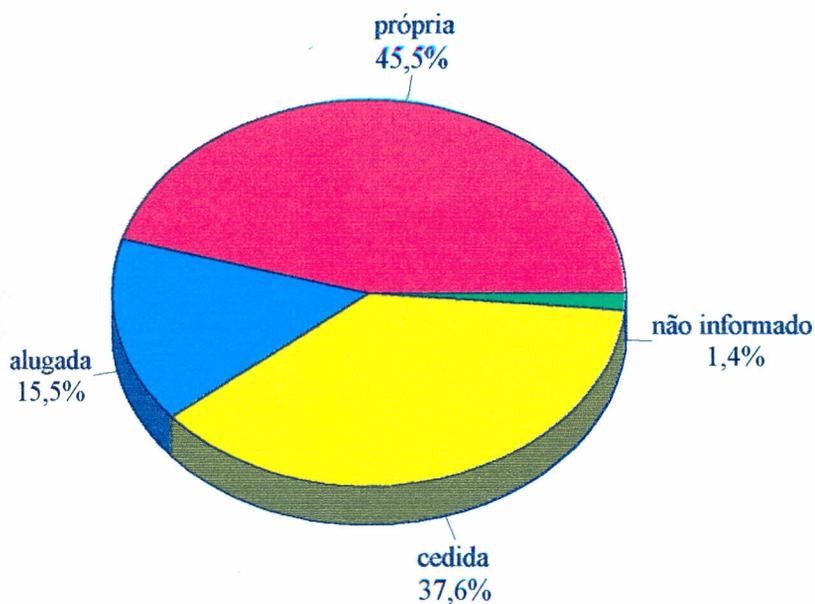


Fig. 7 - Domicílios das 663 gestantes da FSCM-PA, segundo condição de ocupação, período de 1994 a 1995

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Na Fig. 8 observamos que 4,1% das mulheres do presente estudo estão na faixa etária de 12 a 15 anos; 30,2% no grupo de 16 a 19 anos. Estas 2 faixas etárias são

classificadas como adolescentes. A idade da gestante mais jovem era de 12 anos e da mais idosa 42 anos. A idade média das gestantes foi de 22,2 anos.

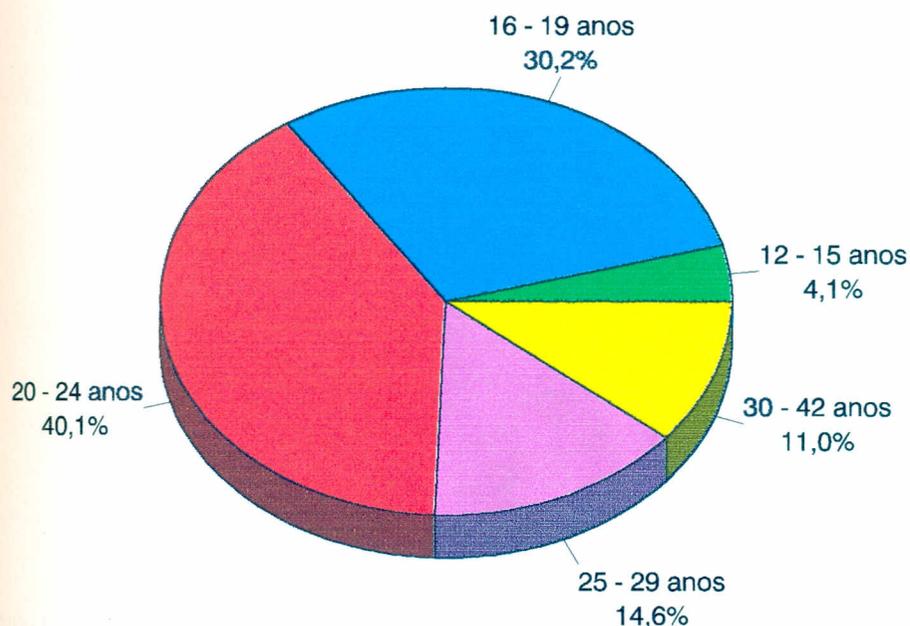


Fig. 8 - Gestantes atendidas na FSCM-PA, segundo faixa etária, no período de 1994 a 1995

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

$$X = 22,27 \quad s^2 = 27,18 \quad s = 5,21$$

O acesso à assistência pré-natal está na Tabela 9, onde podemos constatar que 26,4% das mulheres do presente estudo não realizaram consulta durante o período gestacional e 24,1% tiveram o acompanhamento médico considerado incompleto porque consultaram menos de 5 vezes. Porém, 49,5% das mulheres consultaram 5 ou mais vezes durante a gravidez, o que é considerado como pré-natal completo.

Tabela 9 - Número de consultas do pré-natal de 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Consultas	Nº	%
0	175	26,4
1	7	1,1
2	28	4,2
3	52	7,8
4	73	11,0
5	95	14,3
6	77	11,6
7	82	12,4
8 ou +	74	11,2
Total	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

$$\bar{X} = 4,03 \quad s^2 = 9,02 \quad s = 3,00$$

Dados reprodutivos demonstrados na Tabela 10, indicaram uma média de 2,3 gestações. O número de gestações das mulheres investigadas variou de 1 a 16, sendo 42,1% primigestas.

Tabela 10 - Número de gestações das 663 gestantes atendidas na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Gestações	Nº	%
1	279	42,1
2	182	27,5
3	82	12,4
4	43	6,5
5	33	4,9
6 a 16	44	6,6
Total	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

$$\bar{X} = 2,37 \quad s^2 = 3,81 \quad s = 1,95$$



A prevalência de anticorpos IgG para o CMV, pesquisada pelo método ELISA, nas gestantes da FSCM-PA no período de 1994 a 1995, é de 90,2%.

A prevalência de anticorpos IgG para o CMV por faixa etária pode ser observada na Fig. 9. Verificamos uma prevalência de 92,6%, 87,5%, 90,6%, 92,8% e 91,8%, respectivamente nas faixas etárias de 12 a 15 anos, 16 a 19 anos, 20 a 24 anos, 25 a 29 anos e 30 a 42 anos

Na Fig. 9, observamos ainda que a frequência de susceptíveis ao CMV nas faixas etárias de 12 a 15 anos, 16 a 19 anos, 20 a 24 anos, 25 a 29 anos e 30 a 42 anos, é respectivamente de 7,4%, 12,5%, 9,4%, 7,2% e 8,2%

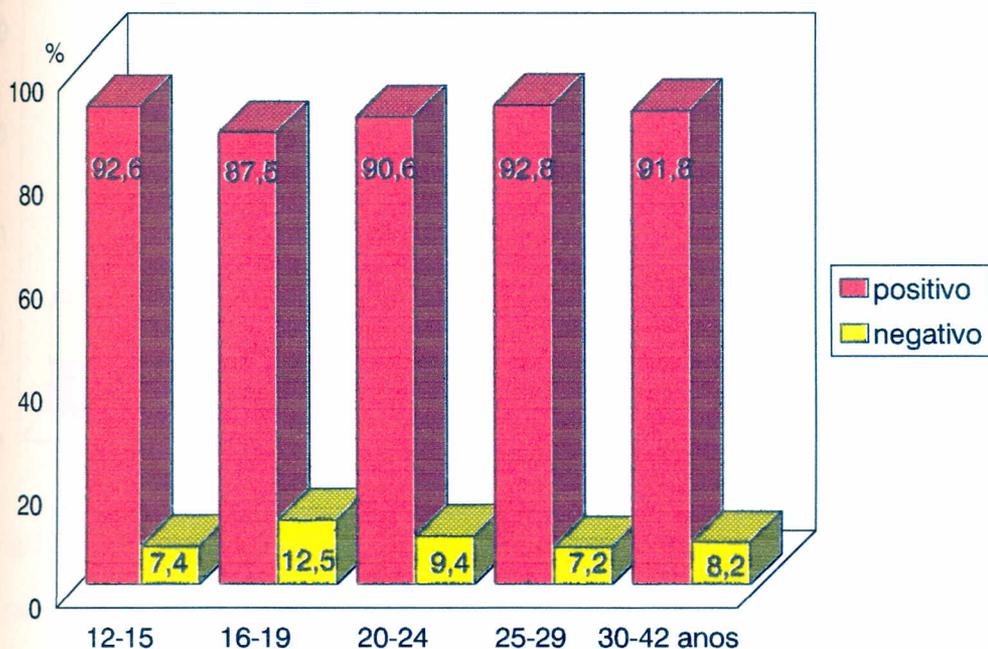


Fig. 9 - Soroprevalência de anticorpos IgG para o citomegalovírus, em gestantes atendidas na FSCM-PA, segundo faixa etária, no período de 1994 a 1995

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Do total de 663 recém-nascidos, 51,7% pertenciam ao sexo masculino e 48,3% ao sexo feminino.

O peso dos recém-nascidos variou de 900 a 5450 gramas, 28,7% estavam no intervalo de 2501 a 3000 gramas, 44,8% na faixa de 3001 a 3500 e 15,1% pesavam mais de 3500 gramas. Baixo peso ao nascer (BPN) ou seja, peso igual ou inferior a 2500 gramas, foi observado em 11,4% das crianças. A média do peso verificada foi de 3046 gramas (Fig. 10).

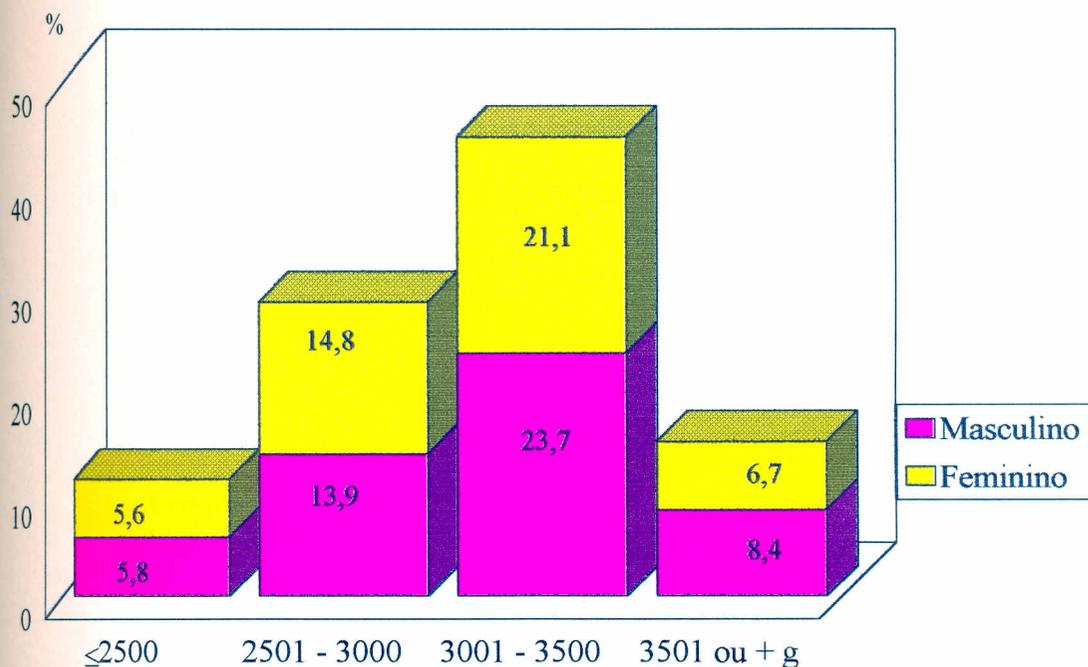


Fig. 10 - Peso ao nascer de 663 recém-nascidos da FSCM-PA, segundo o sexo, no período de 1994 a 1995

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

$$\bar{X} = 3046,40 \quad s = 481,71$$

Infecção congênita pelo CMV, avaliada mediante o isolamento do vírus da saliva (Tabela 11), foi comprovada em 21 (3,2%) dos 663 casos estudados. Quando o diagnóstico foi realizado pela pesquisa de anticorpos IgM pelo método ELISA, foi confirmada doença congênita em 14 (2,1%) dos recém-nascidos. O isolamento do vírus foi mais sensível que a pesquisa de anticorpos IgM para o diagnóstico de infecção congênita. A análise estatística revelou que esta diferença é significativa, usando-se o Teste de McNemar dos Pares Discordantes ( $p$ )=0,0233 e o Teste do Qui-Quadrado da Homogeneidade ( $p$ )<0,01.

Tabela 11 - Incidência de infecção congênita pelo CMV em 663 recém-nascidos, avaliada pelo isolamento do vírus na saliva e pela pesquisa de anticorpos IgM, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Resultados	Cultura de saliva		Sorologia ELISA IgM	
	Nº	%	Nº	%
Amostras positivas	21	3,2	14	2,1
Amostras negativas	642	96,8	649	97,9
Total	663	100,0	663	100,0

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

Teste de McNemar dos Pares Discordantes:  $\chi^2 = 5,1429$  ( $p$ ) = 0,0233

$\chi^2$  da Homogeneidade = 6,914 ( $p$ ) < 0,01

Em 19 crianças, onde a infecção congênita foi confirmada pelo isolamento do vírus da saliva, foi coletada a urina e inoculada em cultura de células primárias de fibroblastos de prepúcio humano. Em todos os casos ocorreu o desenvolvimento do efeito citopático do CMV, que se caracteriza pela presença de inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas que provocam o aumento do volume da célula (Fig. 11,12 e 13).

Não foi possível coletar a urina em 2 recém-nascidos, que foram a óbito na primeira semana de vida, antes dos resultados da inoculação da saliva, inviabilizando a coleta do material.

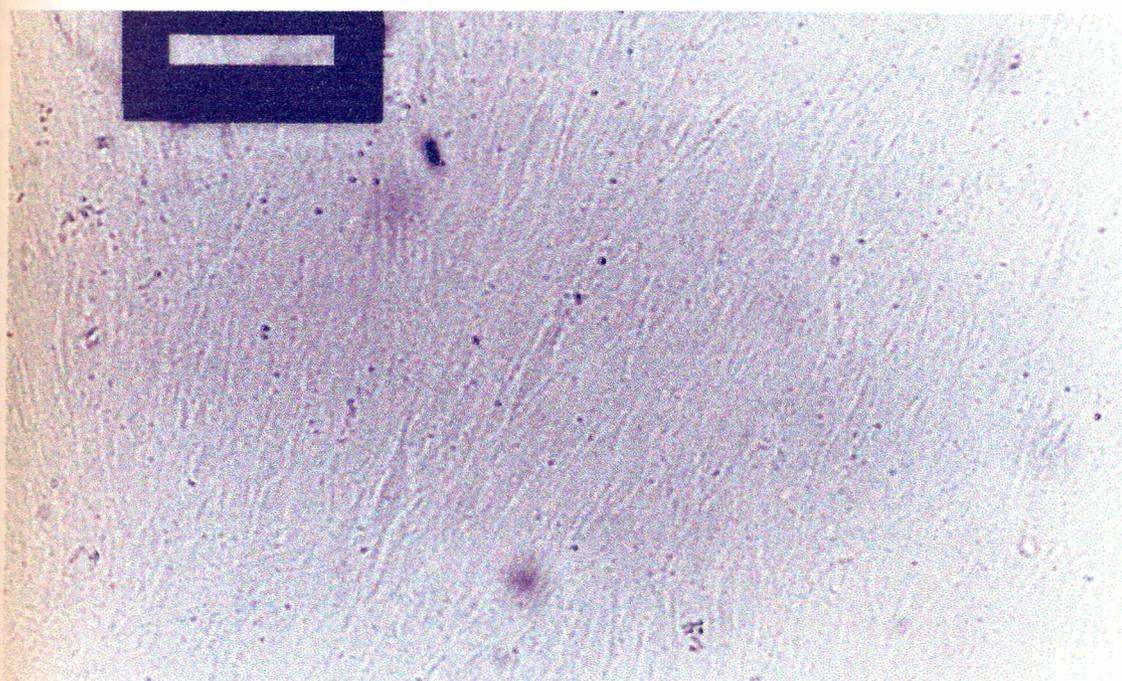


Fig. 11 - Tubo controle mostrando a monocamada de fibroblastos de prepúcio humano sem inoculação do CMV, mantidas com o mesmo processo de manutenção das células que foram inoculadas.

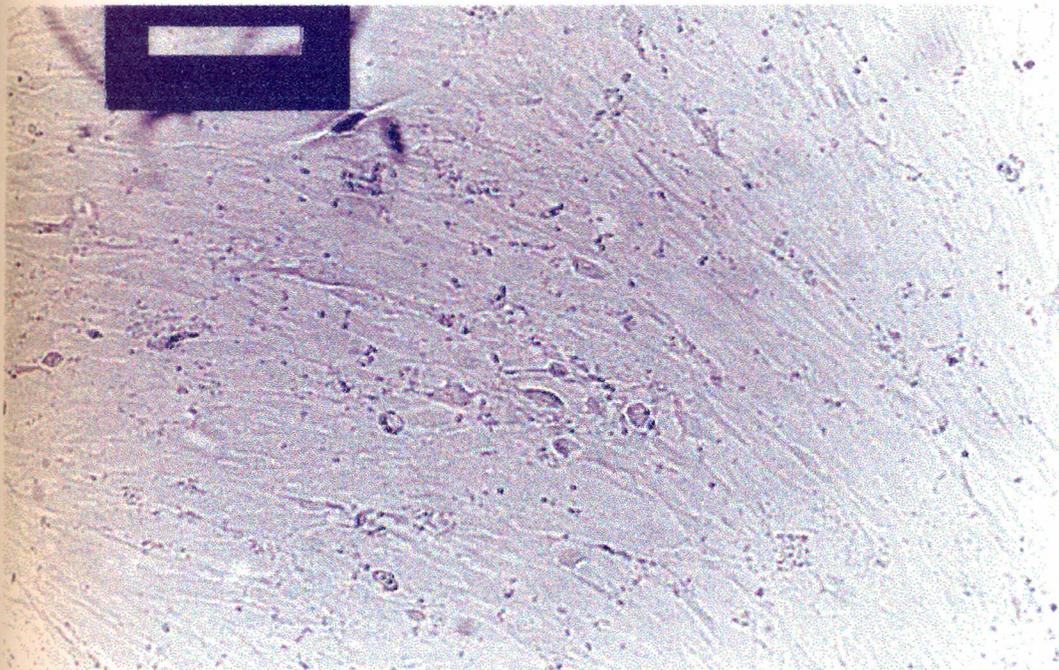


Fig. 12 - Efeito citopático do CMV em fibroblastos de prepúcio humano, após 10 dias de inoculação da urina de uma criança com infecção congênita

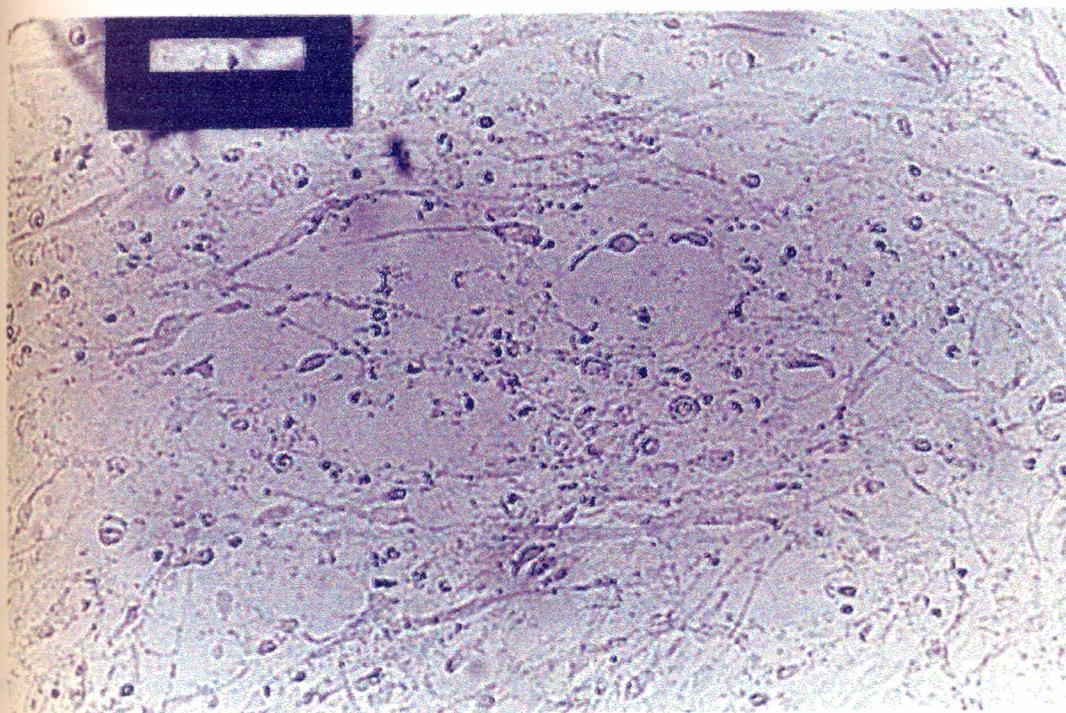


Fig. 13 - Efeito citopático do CMV em fibroblastos de prepúcio humano, após 17 dias de inoculação da urina de uma criança com infecção congênita

Na Fig. 14 podemos constatar que 4 recém-nascidos infectados pelo CMV apresentam o perímetro cefálico abaixo do 10º Percentil, o que caracteriza microcefalia. Os recém-nascidos 10, 15, 16 e 21 (ver Tabela 12) apresentaram microcefalia ao nascimento.

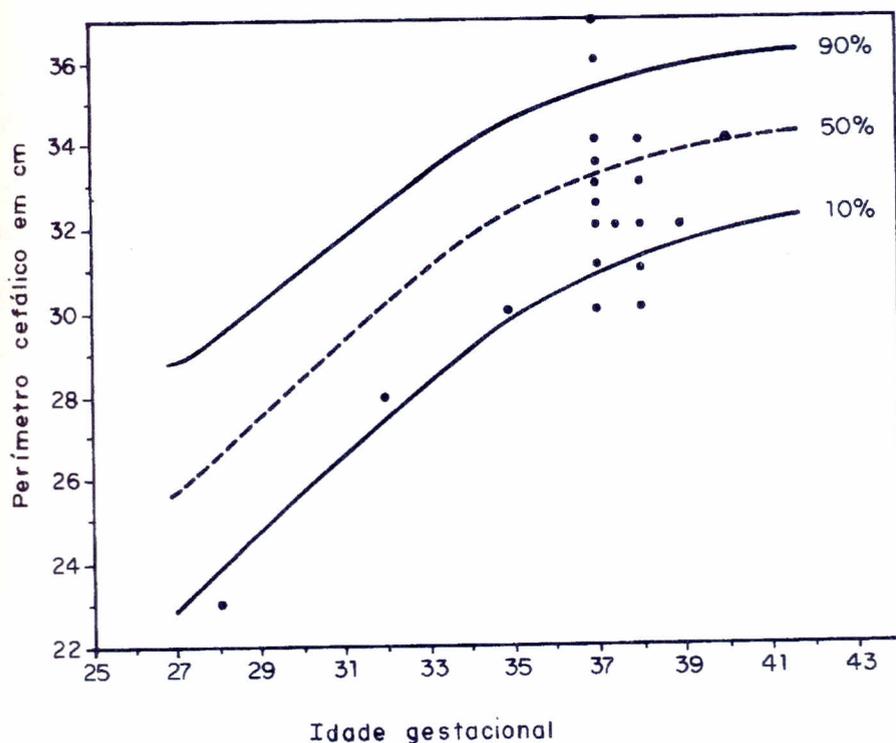


Fig. 14 - Valores do perímetro cefálico dos 21 recém-nascidos de várias idades gestacionais, com infecção congênita pelo CMV, em relação a curva de crescimento cefálico intra-uterino normal baseado no padrão Colorado de crescimento intra-uterino (Lubchenco *et al.*, 1966).

Os dados relativos ao isolamento do vírus da saliva e da sorologia dos 21 recém-nascidos com diagnóstico confirmado de infecção congênita pelo CMV, podem ser vistos na Tabela 12. Podemos observar que, dos 21 casos em que o vírus foi isolado da saliva, a IgM específica foi detectada em 14 (não foi detectada nos casos 1,4,5,6,7, 13 e 16). A imunofluorescência indireta para confirmação diagnóstica foi positiva nos 21 casos.

Os principais achados clínicos dos recém-nascidos com diagnóstico de infecção congênita confirmado através do isolamento do vírus da saliva, no primeiro dia de vida, podem ser observados na Tabela 12. Dos 21 casos, 4 apresentaram anoxia perinatal, 3 prematuridade, 2 eram pequenos para a idade gestacional, 2 hepatoesplenomegalia e 1 icterícia precoce. Das crianças sintomáticas ao nascimento 2 foram a óbito na primeira semana de vida.

Tabela 12 - Achados virológicos e alterações clínicas observadas em 21 recém-nascidos com diagnóstico confirmado de infecção congênita pelo CMV, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

RN	Sexo	Cultura saliva	ELISA IgG	ELISA IgM	IFI	Peso RN	Apgar 1'	Apgar 5'	Classif. do RN	Alterações clínicas 1º dia
1	m	+	1:300	Neg.	+	3000	8	9	T AIG	ndn
2	m	+	1:600	1:800	+	3000	8	9	T AIG	ndn
3	f	+	1:400	1:300	+	3000	7	9	T AIG	ndn
4	f	+	1:800	Neg.	+	3150	7	9	T AIG	ndn
5	f	+	1:200	Neg.	+	3040	9	9	T AIG	ndn
6	f	+	1:300	Neg.	+	2900	7	8	T AIG	ndn
7	m	+	1:600	Neg.	+	2040	4	8	PT AIG	Icterícia, HE
8	f	+	1:800	1:200	+	3150	8	10	T AIG	ndn
9	f	+	1:1600	1:300	+	1450	1	5	PT AIG	Anoxia grave
10	f	+	1:1200	1:100	+	1900	?	?	T PIG	Anoxia grave
11	f	+	1:800	1:150	+	3200	8	9	T AIG	ndn
12	f	+	1:600	1:300	+	4400	9	9	T GIG	ndn
13	m	+	1:400	Neg.	+	3100	8	9	T AIG	ndn
14	m	+	1:300	1:150	+	2750	8	9	T AIG	ndn
15	f	+	1:600	1:300	+	2100	4	7	T PIG	Anoxia grave
16	f	+	1:1200	Neg.	+	900	4	7	PT AIG	Anoxia grave
17	m	+	1:400	1:150	+	2700	8	9	T AIG	ndn
18	f	+	1:200	1:100	+	3200	8	9	T AIG	ndn
19	m	+	1:600	1:100	+	2900	8	9	T AIG	ndn
20	m	+	1:800	1:400	+	3500	8	9	T AIG	ndn
21	f	+	1:1200	≥1:1600	+	2700	8	9	T AIG	HE

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

T=Termo PT= Pré-termo NDN=Nada digno de nota HE =Hepatoesplenomegalia

AIG=Apropriado para a idade gestacional GIG=Grande para a idade gestacional

PIG=Pequeno para a idade gestacional IFI= Imunofluorescência indireta

Os recém-nascidos 15 e 16 foram a óbito na primeira semana de vida

Os antecedentes familiares das 21 mulheres, mães dos recém-nascidos infectados pelo CMV, estão descritos na Tabela 13. A idade varia de 14 a 24 anos, com uma idade média de 18,3 anos. Em relação ao estado civil verificamos 8 solteiras, 11 com união consensual e 2 casadas. Os dados reprodutivos revelam que 14 puérperas eram primigestas. O pré-natal completo foi realizado por 10 gestantes deste grupo, entretanto 5 não fizeram nenhuma consulta durante o período gestacional. Nenhuma das mulheres, manifestou alterações clínicas durante o período gestacional que pudessem sugerir infecção aguda pelo CMV. Contudo, em 4 casos a pesquisa de anticorpos IgM específicos para o CMV foi positivo nas amostras de sangue, sugerindo infecção recente.

Tabela 13 - Antecedentes familiares e resultados sorológicos observados nas mães dos 21 recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV, na FSCM-PA, no período de 1994 a 1995.

Mães	Idade	Estado civil	Gestação	Pré-natal	ELISA IgG	ELISA IgM
1	22	União consensual	4	Não	1:600	1:150
2	17	União consensual	3	Completo	1:800	Neg.
3	19	Solteira	1	Completo	1:400	Neg.
4	14	Solteira	1	Completo	1:600	1:150
5	20	Casada	2	Completo	1:1600	1:150
6	19	União consensual	2	Incompleto	1:400	Neg.
7	17	União consensual	1	Incompleto	1:1600	1:300
8	23	União consensual	1	Completo	1:2400	Neg.
9	15	União consensual	1	Completo	≥1:3200	Neg.
10	18	Solteira	1	Incompleto	1:800	Neg.
11	19	Casada	1	Não	1:1200	Neg.
12	17	União consensual	1	Não	1:600	Neg.
13	20	União consensual	3	Completo	1:600	Neg.
14	18	Solteira	1	Completo	1:800	Neg.
15	15	Solteira	1	Não	1:200	Neg.
16	15	Solteira	1	Incompleto	1:1600	Neg.
17	17	União consensual	1	Completo	1:1600	Neg.
18	24	União consensual	2	Completo	1:600	Neg.
19	18	Solteira	1	Não	1:600	Neg.
20	19	União consensual	2	Incompleto	1:600	Neg.
21	19	Solteira	1	Incompleto	1:800	Neg.

Fonte: FSCM-PA e COEHMA-IEC/FNS

#### 4. DISCUSSÃO

A caracterização do nível socioeconômico das gestantes é fator importante na avaliação da soroprevalência de anticorpos específicos contra o CMV e na incidência de infecção congênita.

As gestantes atendidas na FSCM-PA podem ser incluídas no grupo de nível socioeconômico baixo. Na Tabela 7, podemos observar que a maioria das famílias têm uma renda familiar de até 3 salários mínimos, com exceção de 1 com renda de 4 salários. A importante proporção representada pelo grupo sem rendimento composto por mulheres solteiras, separadas e divorciadas, também revela um grave problema social.

Em relação a escolaridade observamos nas Tabelas 2 e 3, que 4,8% das puerperas e 5,8% dos cônjuges são considerados não alfabetizados, segundo critérios do IBGE ( CARACTERÍSTICAS demográficas..., 1994). A grande maioria dos entrevistados revelou como nível de escolaridade o primeiro grau incompleto, observado em 68,8% das mulheres e 56,8% dos cônjuges.

O nível de ocupação remunerada das gestantes é baixo, abrangendo somente 11,3% (Tabela 4). Entre os grupos de ocupação observa-se que aproximadamente 50% está classificada como prestadora de serviços, todas trabalhando como empregada doméstica (Tabela 5). Em relação aos cônjuges, observamos na Tabela 6, que o grupo de ocupação mais referido é o da indústria de transformação, onde destacamos o elevado percentual de serventes de pedreiro. Em ambos os grupos, as ocupações predominantes refletem a situação de baixa remuneração.

A influência das condições de saneamento básico sobre a saúde da população está comprovada há muito tempo. Se considerarmos como adequados os domicílios com abastecimento de água ligados à rede geral e presença de fossa séptica (CRIANÇAS e adolescentes..., 1992), observamos que somente 52,8% satisfazem esta condição.

A gravidez é um evento fisiológico natural da vida das mulheres, e não pode ser caracterizado como estado patológico. Porém, algumas gestantes, por estarem expostas a fatores de risco ou por apresentarem alterações patológicas, podem desenvolver complicações que afetam a sua saúde e/ou a saúde do concepto.

A análise dos resultados obtidos através da história clínica perinatal demonstrou, que 34,3% das puérperas do presente estudo se encontram na faixa etária dos 12 a 19 anos (isto é a somatória dos percentuais das faixas etárias de 12 a 15 e 16 a 19 anos) (Fig. 8). As mulheres nesta faixa etária são classificadas como adolescentes e os riscos de complicações durante a gravidez e o parto são mais frequentes. (Correia & McAuliffe, 1993)

A atenção pré-natal é importante para a determinação dos fatores de risco e proporcionar uma gravidez normal. Entretanto, mesmo nos casos em que nenhuma alteração é detectada, se faz necessário o monitoramento da evolução da gravidez para propiciar medidas preventivas e educativas à gestante. De modo geral, considera-se como satisfatória uma média de cinco consultas por gestante, independente do risco, e que três delas deveriam ser realizadas no último trimestre da gravidez (Correia & McAuliffe, 1993).

Na Tabela 9, observamos que a assistência pré-natal, no presente estudo, pode ser considerada deficiente, se levarmos em conta que 26,4% das puérperas da amostra

não fizeram nenhuma consulta e 24,1% realizaram menos de cinco consultas durante o período gestacional. Estes resultados são comparáveis aos da região nordeste do país (CRIANÇAS e adolescentes, 1992).

O peso normal de uma criança ao nascer é de cerca de 3000 gramas. Define-se um recém-nascido de baixo peso (BPN) que apresenta ao nascimento 2500 gramas ou menos. O baixo peso ao nascer é um importante fator de risco para a mortalidade neonatal e infantil, e também para a desnutrição infantil.

No Brasil aproximadamente 10% dos recém-nascidos apresentam baixo peso, indicando que o país está numa faixa considerada entre média e alta (Monteiro, 1992). No presente trabalho encontramos 11,4% de recém-nascidos com BPN, uma incidência ligeiramente superior a média nacional.

A prevalência de anticorpos específicos contra o CMV, nas 663 puérperas do presente estudo, foi de 90,2%.

Na Tabela 14 podemos verificar que o resultado é comparável a outras regiões de nível socioeconômico baixo. Pannuti *et al.* (1985), na cidade de São Paulo, observaram uma prevalência anticorpos contra o CMV de 84,4% em gestantes desta mesma faixa de renda, enquanto Linhares *et al.* (1989), em Recife, detectaram uma imunidade de 78%.

Na Tabela 14, observamos a prevalência de anticorpos de diversos países. Também podemos fazer uma comparação da prevalência de anticorpos contra específicos contra o CMV em diferentes níveis socioeconômicos com os achados do presente estudo.

Tabela 14 - Prevalência de anticorpos para o CMV em gestantes de diversas regiões.

Localidade	imunes %	susceptíveis %	Fonte
Flórida (USA) *	48,0	52,0	(Monif <i>et al.</i> , 1970)
Manchester (Inglaterra)	57,0	43,0	(CYTOMEGALOVIRUS..., 1970)
Helsinki (Finlândia)	73,0	27,0	(Leinikki <i>et al.</i> , 1978)
Abidjan (Costa do Marfim)	99,7	0,3	(Schopfer <i>et al.</i> , 1978)
Paris (França) **	66,5	33,5	(Cabau <i>et al.</i> , 1979)
Paris (França) *	47,4	52,6	(Cabau <i>et al.</i> , 1979)
Birmingham (USA) *	60,0	40,0	(Stagno <i>et al.</i> , 1982)
Birmingham (USA) **	85,0	15,0	(Stagno <i>et al.</i> , 1982)
Malmo (Suécia)	72,0	28,0	(Ahlfors, 1982)
Lima (Peru) *	75,0	25,0	(Palacios <i>et al.</i> , 1983)
Lima (Peru) **	100,0	0,0	(Palacios <i>et al.</i> , 1983)
São Paulo (Brasil) *	65,5	34,5	(Pannuti <i>et al.</i> , 1985)
São Paulo (Brasil) **	84,4	15,6	(Pannuti <i>et al.</i> , 1985)
Jamaica	97,0	3,0	(Prabhakar <i>et al.</i> , 1991)
Caracas (Venezuela)	95,0	5,0	(Vidal <i>et al.</i> , 1988)
Houston (USA) *	50,0	50,0	(Walmus <i>et al.</i> , 1988)
Recife (Brasil) *	55,7	44,3	(Linhares <i>et al.</i> , 1989)
Recife (Brasil) **	78,0	22,0	(Linhares <i>et al.</i> , 1989)
Bélgica	51,4	48,6	(Lamy <i>et al.</i> , 1992)
Belém (Brasil) **	90,2	9,8	(Presente estudo)

\* Nível socioeconômico médio ou alto

\*\* Nível socioeconômico baixo

Pass *et al.* (1995), em gráfico que avalia a evolução da prevalência de anticorpos específicos para o CMV, em populações de baixa renda, demonstram que na faixa etária dos 16 a 21 anos acima de 80% apresentam anticorpos, chegando a 100% em algumas regiões. Nos níveis socioeconômicos mais elevados, nesta mesma faixa etária os imunes chegam a aproximadamente 30%. Nos países em desenvolvimento e nas regiões

pobres dos países desenvolvidos, de modo geral a infecção pelo CMV é adquirida na infância ou fase inicial da adolescência. Quando analisamos a prevalência de anticorpos contra o CMV, em uma população, devemos nos referir também, às suas condições socioeconômicas. Em nosso estudo a prevalência de anticorpos específicos contra o CMV na faixas etárias de 12 a 15 anos, 16 a 19 anos e 20 a 24 anos é respectivamente 92,6%, 87,5% e 90,6%, estes resultados demonstram níveis compatíveis com as populações de baixa renda de outra regiões.

A incidência de infecção congênita pelo CMV parece guardar uma relação direta com a prevalência de anticorpos para este vírus (Stagno *et al.*, 1982). Por este fato, nas populações de baixa renda, o número de crianças infectadas é superior se comparado com regiões de nível socioeconômico médio ou alto.

Assim, Stagno *et al.* (1982), em Birmingham (USA), publicaram os resultados de um estudo, onde se constatou que a incidência de infecção foi mais acentuada nos recém-nascidos de mães de nível socioeconômico baixo. No grupo de baixa renda detectaram 1,6% de crianças infectadas, enquanto nos filhos de mães com renda mais elevada foi de 0,6%.

Na Tabela 11, podemos observar que a incidência de infecção congênita pelo CMV é de 3,2%. Na Tabela 15 constatamos que a incidência em nossa amostra é mais elevada do que nas outras regiões, refletindo o baixo nível socioeconômico da população estudada.

Tabela 15 - Incidência de infecção congênita pelo CMV em diversos países diagnosticado por isolamento do vírus .

Localidade	%	Fonte
Bethesda (USA)	0,54	(Birbaum, 1969)
Cleveland (USA)	1,2	(Starr <i>et al.</i> , 1970)
Manchester (Inglaterra)	0,43	(CYTOMEGALOVIRUS..., 1970)
New York (USA)	1,1	(Hanshaw, 1971)
Rochester (USA)	1,0	(Melish & Hanshaw, 1973)
Manchester (Inglaterra)	0,24	(MacDonald & Tobin, 1978)
Helsinki (Finlândia)	1,57	(Leinikki <i>et al.</i> , 1978)
Abidjan (Costa do Marfim)	1,4	(Schopfer <i>et al.</i> , 1978)
Birmingham (USA)	** 2,2	(Stagno <i>et al.</i> , 1980b)
Houston (USA)	* 0,6	(Montgomery <i>et al.</i> , 1980)
Houston (USA)	** 1,2	(Montgomery <i>et al.</i> , 1980)
Ontário (Canadá)	0,42	(Larke <i>et al.</i> , 1980)
Malmö (Suécia)	0,45	(Ahlfors, 1982)
São Paulo (Brasil)	** 0,98	(Pannuti <i>et al.</i> , 1985)
São Paulo (Brasil)	* 0,39	(Pannuti <i>et al.</i> , 1985)
Birmingham (USA)	** 1,25	(Fowler <i>et al.</i> , 1993)
Birmingham (USA)	* 0,53	(Fowler <i>et al.</i> , 1993)
Birmingham (USA)	1,7	(Balcarek <i>et al.</i> , 1993)
Belém (Brasil)	** 3,2	(Presente estudo, 1997)

\* Nível socioeconômico médio ou alto

\*\* Nível socioeconômico baixo

O grupo de Stagno, também observou que as infecções recorrentes maternas são responsáveis por um número acentuadamente maior de infecções congênitas (81,2%). Entretanto, nas gestantes de nível socioeconômico mais elevado, 50% das infecções congênitas são oriundas de um episódio de infecção primária durante a gestação. Nesta

mesma publicação, os autores constataram que 42% das mulheres, com infecção primária pelo CMV durante o período gestacional, transmitem o vírus para o concepto.

Pannuti *et al.* (1985), na cidade de São Paulo (Brasil), comparando populações de níveis socioeconômicos diferentes, encontraram uma incidência de infecção congênita pelo CMV 2,5 vezes mais elevada nos filhos de mulheres de baixa renda.

Fowler *et al.* (1993), em Birmingham (USA), detectaram uma incidência de 1,2% de infecção congênita pelo CMV na população de nível socioeconômico baixo. Nas crianças, filhos de mães da faixa de renda mais elevada, verificaram 0,5% com doença congênita. Os autores observaram que a maioria das crianças com infecção congênita, na população de baixa renda, são filhos de mães com idade inferior a 25 anos de idade.

Na Tabela 13, podemos notar que a idade das mães dos recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV, diagnosticados em nosso estudo, é inferior a 25 anos, comparável aos resultados da pesquisa do grupo de Fowler (1993).

Em relação aos sintomas apresentados nas primeiras 24 horas após o nascimento, observamos na Tabela 12 e Fig.14 que 28,5% (6) dos recém-nascidos, cujo diagnóstico de infecção congênita foi comprovado pelo isolamento do vírus, apresentam sinais sugestivos de doença congênita. As principais alterações detectadas foram microcefalia (4), prematuridade (3), pequeno para idade gestacional (2), hepatoesplenomegalia (2) e icterícia precoce (1). Por outro lado, 2 destas crianças foram a óbito na primeira semana de vida por insuficiência respiratória. Stagno *et al.* (1982), constataram que 15% dos recém-nascidos infectados pelo CMV apresentavam

sintomatologia ao nascimento, enquanto Ahlfors (1982), encontrou alterações em 20% das crianças infectadas.

Em nosso estudo das 6 crianças com infecção congênita pelo CMV sintomáticas ao nascimento, 66% (4) apresentaram microcefalia. Boppana *et al.* (1992) encontraram microcefalia em 54% dos recém-nascidos infectados sintomáticos ao nascimento.

Fowler *et al.* (1992), publicaram os resultados de 18 anos de estudo, de 1972 até 1990, no qual fizeram um acompanhamento de 189 crianças com infecção congênita pelo CMV confirmada pelo isolamento do vírus da urina. Os 189 recém-nascidos foram divididos em 2 grupos, sendo 125 filhos de mães que tiveram infecção primária durante o período gestacional e 64 eram filhos de mulheres que tiveram infecção recorrente durante a gravidez. O seguimento foi por um período médio de 4,7 anos com avaliação clínica, auditiva, neurológica e oftalmológica. As manifestações clínicas ao nascimento estavam presentes em 24 (18%) dos conceptos do grupo de infecção primária.

Fowler *et al.* (1992), observaram também que, 25% das crianças do grupo de infecção primária apresentaram seqüelas e somente 8% do grupo de infecção recorrente. As principais seqüelas nos filhos das mães com infecção primária durante a gravidez foram deficiência auditiva (15%), deficiência mental com Q.I.  $\leq 70$  (13%), coriorretinite (6%), microcefalia (5%), convulsões (5%). Porém, no grupo de infecção recorrente encontramos deficiência auditiva (5%), coriorretinite (2%), microcefalia (2%). Os autores, chegaram a conclusão que a presença de anticorpos contra o CMV antes da concepção, proporciona uma importante proteção contra as seqüelas da infecção congênita no recém-nascido

infectado. A infecção primária, durante o período gestacional, está associada com as mais graves seqüelas da infecção congênita pelo CMV.

Estudos recentes detectaram nas crianças com infecção congênita pelo CMV, que apresentam seqüelas auditivas e coriorretinite, uma progressiva evolução das lesões, principalmente nos primeiros anos de vida. Nas crianças com seqüelas auditivas o agravamento ocorre em 80% dos casos, enquanto que a coriorretinite progride em 25 a 50% (Williamson *et al.*, 1992, Fowler *et al.*, 1992). A patogênese dessa disfunção progressiva é desconhecida, algumas hipóteses apontam para a contínua replicação viral, indução de disfunção celular pelo vírus, destruição por atividade imunológica das células cronicamente infectadas (Britt & Alford, 1996).

Como não conhecíamos o estado imunitário anterior ao período gestacional, das mães dos recém-nascidos infectados pelo CMV, não foi possível determinar o número de infecções maternas primárias ou recorrentes durante a gravidez. Também não foi possível detectar em quais casos a transmissão intra-uterina ocorreu durante infecção primária ou recorrente.

Entretanto, na nossa amostra, a presença de anticorpos IgM específicos, foi detectada em 4 mulheres cujos filhos estavam infectados congenitamente pelo CMV. Este fato nos permite supor que, pelo menos nestes 4 casos, a infecção materna tenha sido primária, pois os anticorpos IgM nas infecções adquiridas raramente persistem por mais de 4 meses (Kangro, 1980).

Pela metodologia aplicada no presente trabalho, não podemos descartar a ocorrência de outros casos de infecção primária materna. As infecções poderiam ter

ocorrido no início da gravidez e, neste caso, os anticorpos da classe IgM não seriam mais detectáveis no momento da colheita do material, que foi realizado no dia seguinte após o parto.

As gestantes que deram à luz aos recém-nascidos infectados congenitamente, não relataram no período gestacional, qualquer sinal ou sintoma sugestivo de infecção aguda pelo CMV. A ausência de sinais clínicos é encontrado em praticamente todos os estudos prospectivos, pois a infecção é assintomática na maioria dos indivíduos normais, crianças ou adultos. A ausência de sintomatologia, é um dos fatores que dificultam a determinação do período da gestação em que possa ter acontecido a transmissão do vírus para o concepto

A patogênese das lesões causadas pelo CMV ainda não está esclarecida. Até o momento, os fatores que influenciam na transmissão e na virulência da infecção fetal estão indefinidos.

Até o início da década de 70, o pensamento unânime era que a infecção congênita no recém-nascido ocorria somente se a gestante manifestasse infecção primária durante a gravidez.

Schopfer *et al.* (1978), na Costa do Marfim, observaram uma incidência de 1,4% de infecção congênita entre os 2032 recém-nascidos estudados. A população desse país apresenta imunidade de 100% na idade adulta, pois a infecção primária ocorre na infância. De acordo com os autores, estes resultados afastaram a possibilidade da ocorrência de infecção primária materna durante a gravidez. O estudo de Schopfer foi importante para a compreensão dos mecanismos de infecção fetal e veio confirmar indiretamente os resultados

obtidos pelo grupo de Stagno (1977) de que a presença de anticorpos maternos não protege o concepto quanto a possibilidade de ocorrer uma infecção congênita.

Por outro lado, o mecanismo da transmissão intra-uterina do CMV, mesmo na presença de anticorpos maternos, ainda não está totalmente esclarecido.

Huang *et al.* (1980) constataram nos casos em que se isolou o vírus de 2 gestações sucessivas, as cepas de CMV eram geneticamente idênticas sugerindo que ocorreu a reativação de um vírus latente. Em recém-nascidos infectados em gestações sucessivas, o primeiro apresentava manifestações clínicas severas, enquanto que a segunda criança era assintomática, demonstrando que a imunidade materna contribui para atenuar a infecção fetal.

A presença de imunidade materna antes da gravidez, não evita a transmissão do vírus para o concepto, mas dá uma certa proteção atenuando as manifestações clínicas e seqüelas neurológicas das crianças (Stagno *et al.*, 1982; Fowler *et al.*, 1992).

Vários estudos (Gehrz *et al.*, 1977; Starr *et al.*, 1979; Reynolds *et al.*, 1979) demonstraram que a imunidade celular materna específica para o CMV está deprimida em algumas mulheres que infectaram seus conceptos durante a gravidez.

A prolongada diminuição da resposta blastogênica linfocitária específica ao CMV mostra-se como um caráter distintivo da infecção congênita por este vírus. Esta crônica resposta blastogênica defeituosa parece ser específico ao CMV, pois não foi encontrada em outras infecções virais. Nas crianças infectadas esta alteração esteve presente por um período médio de 5 anos (Pass *et al.*, 1983).

A função da placenta, durante a infecção materna pelo CMV, constitui-se numa área importante para o estudo da patogênese. Tem sido detectada infecção placentária com ou sem envolvimento fetal. As infecções fetais são mais virulentas quando ocorrem durante a primeira metade do período gestacional (Alford & Britt, 1990).

Boppana *et al.* (1993) observaram que os recém-nascidos com infecção congênita pelo CMV, assintomáticos ao nascimento, que desenvolvem deficiência auditiva, apresentam um elevado título de anticorpos IgG reativos contra a glicoproteína (gB) do envelope viral no sangue do cordão umbilical. O sangue das mães dessas crianças, coletado durante o período gestacional e logo após o parto, também revelou elevados níveis de anticorpos IgG anti-gB. Esta persistente presença de níveis elevados de anticorpos IgG anti-gB, traduz um elevado nível de replicação viral. Os autores sugerem, que este poderá ser futuramente um exame para a triagem dos casos de infecção congênita, assintomáticos ao nascimento, que apresentam risco de desenvolver seqüelas auditivas.

Estudos experimentais em cobaias (Kumar & Prokay, 1983) demonstram que a época em que ocorre a infecção materna é fator importante no desfecho da gestação. Os pesquisadores observaram que o risco de transmissão para o feto é maior quando a infecção materna ocorre no final da gravidez. Entretanto, quando a infecção fetal ocorre no primeiro ou segundo trimestre da gravidez, as possibilidades de lesões graves aumentam significativamente pelo maior possibilidade de disseminação do CMV para múltiplos tecidos.

Tsutsui *et al.* (1993), realizaram experiências nas quais induziram infecção pelo CMV em camundongos, na metade do período gestacional destes animais, e observaram lesões principalmente ao nível do globo ocular e cérebro. Os resultados sugerem

que as primeiras células atingidas são as células mesenquimais, e posteriormente a infecção se propaga ao globo ocular e cérebro. Por outro lado, a infecção mesenquimal altera a organogênese, resultando em microftalmia e atrofia cerebral. Os autores sugerem que este poderá servir como modelo experimental para a infecção congênita pelo CMV em humanos.

Após a observação da presença do CMV no esperma humano (Lang & Kummer, 1975), a transmissão sexual do vírus tendo o esperma como o transportador do genoma do CMV para o interior do óvulo, no momento da concepção, tem sido proposto.

Baskar *et al.* (1993) usando como modelo experimental camundongos, demonstraram que a microinjeção do ovo fertilizado com DNA do CMV específico destes animais, isolado do esperma infectado, resulta na transmissão de seqüências do genoma viral para o embrião. As alterações observadas nos embriões de camundongos foram retardo do desenvolvimento, malformações e reabsorção de áreas de necrose de tecido fetal e da placenta. As lesões encontradas são similares as alterações da infecção congênita pelo HCMV. Este estudo mostra a possível transmissão do CMV através do esperma contaminado durante a concepção.

Para o esclarecimento da patogênese da infecção congênita pelo CMV, serão necessários estudos das alterações imunológicas, placentárias e experimentais em animais.

Na Tabela 11, constatamos no presente estudo, que a incidência de infecção congênita pelo CMV é de 3,2%, quando utilizamos como método diagnóstico o isolamento do vírus na saliva. Na mesma tabela, podemos notar que através da pesquisa de anticorpos IgM específicos do sangue do cordão umbilical, a incidência é de 2,1%.



Montgomery *et al.* (1980), detectaram 9 casos de infecção congênita pelo CMV, através do isolamento da urina. A pesquisa de anticorpos IgM foi positiva somente em 3 casos.

Pannuti *et al.* (1985), comparando duas técnicas para o diagnóstico de infecção congênita pelo CMV, constataram que a incidência avaliada através do isolamento do vírus da urina de 508 recém-nascidos de nível socioeconômico baixo foi de 0,9% (5) porém, a pesquisa de anticorpos IgM foi positiva em somente 2 destas crianças. Entretanto, utilizando a pesquisa de anticorpos IgM no sangue do cordão umbilical de 648 crianças do mesmo nível de renda, verificaram uma incidência de apenas 0,46%.

Os resultados falso-negativos, são provocados pelo mecanismo de competição junto aos receptores antigênicos do CMV, pela presença de uma concentração mais acentuada de moléculas IgG materna, em comparação com a IgM fetal (Stagno *et al.*, 1980 b). A utilização do teste ELISA com captura de IgM, é uma forma de diminuir os falso-negativos.

Os resultados falso-positivos são decorrentes principalmente pela presença do fator reumatóide no sangue do recém-nascido que é uma imunoglobulina M com atividade inespecífica contra IgG humana (Stagno *et al.*, 1980 b).

As diferenças observadas no presente trabalho, em relação à incidência de infecção congênita pelo CMV, quando utilizamos como método diagnóstico o isolamento do vírus da saliva ou pesquisa de anticorpos IgM específicos do sangue do cordão, eram previsíveis, pois as técnicas de isolamento do vírus são consideradas superiores a dosagem de anticorpos IgM do sangue do cordão umbilical. (Pass *et al.*, 1995).

A análise estatística, através da utilização do Teste de McNemar dos Pares Discordantes, mostrou que o resultado é significativo ( $p=0,0233$ ). Para a realização do Teste do Qui-Quadrado da Homogeneidade foram utilizados os resultados das amostras de Montgomery *et al.* (1980), Pannuti (1983) e do presente estudo apresentando um resultado significativo ( $p<0,01$ ). Estas análises estatísticas demonstram, que o isolamento do vírus é um método diagnóstico mais sensível que a pesquisa de anticorpos IgM, no sangue do recém-nascido, para o diagnóstico de infecção congênita pelo CMV.

A utilização, de diferentes linhagens celulares de fibroblastos de prepúcio humano, com um número variável de passagens, no presente estudo, não tiveram influência no resultado final da pesquisa, pois a sensibilidade das células ao isolamento do CMV se manteve inalterada durante toda pesquisa.

Sharon (1976) sugeriu que a susceptibilidade ao CMV mantém-se inalterada nas várias passagens das culturas primárias de fibroblastos de prepúcio humano.

Os estudos da incidência de infecção congênita pelo CMV, em quase sua totalidade, utilizam como método diagnóstico o isolamento do vírus da urina ou saliva do recém-nascido. As amostras devem ser coletadas nas 2 primeiras semanas de vida, para evitar os casos de infecção adquiridas pela contaminação do recém-nascido na passagem pelo canal do parto ou pelo leite materno. A infecção adquirida logo após o parto, é denominada de infecção perinatal e o período de incubação é superior a 2 semanas (Reynolds *et al.*, 1973).

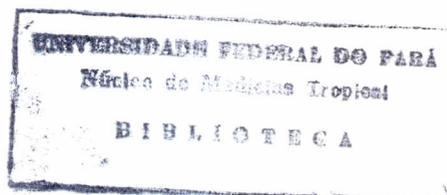
O diagnóstico da infecção congênita do CMV, através do isolamento do vírus da urina ou saliva, em cultura de fibroblastos de prepúcio humano, é um dos métodos mais

sensíveis, mas requer uma manutenção e observação da cultura por no mínimo 4 semanas, para que possa ser declarada como negativa. Nos últimos anos foram realizadas pesquisas procurando meios diagnósticos mais rápidos (Warren *et al.*, 1992; Balcarek *et al.*, 1993).

Warren *et al.* (1992), fizeram um estudo onde compararam 3 métodos diagnósticos, o isolamento do vírus em cultura de fibroblastos, reação de polimerase em cadeia (PCR) e detecção do foco fluorescente precoce do antígeno através da utilização de anticorpos monoclonais (DEAFF). Os autores chegaram a conclusão que os 3 métodos apresentam níveis de sensibilidade similar, mas o PCR e o DEAFF podem proporcionar os resultados num período mais rápido, em 24 a 48 horas.

Balcarek *et al.* (1993), em Birmingham, pesquisaram o CMV na saliva e urina de um grupo de recém-nascidos, e observaram que o isolamento do vírus ou pesquisa do antígeno na saliva é um método de diagnóstico com uma sensibilidade semelhante a urina. Outro ponto favorável, é que a coleta da saliva é muito mais fácil de ser efetuada, não apresentando os inconvenientes de contaminação por conteúdo fecal como frequentemente ocorre na coleta das amostras de urina. Os autores, também fizeram um levantamento dos custos com pessoal de enfermagem e material necessário para a realização dos testes, e concluíram que os gastos financeiros são menores utilizando a saliva.

O diagnóstico precoce da infecção congênita pelo CMV é importante, para permitir um acompanhamento e proporcionar um planejamento adequado visando minimizar as seqüelas auditivas, oftalmológicas e mentais decorrentes desta doença (Warren *et al.*, 1992).



Por outro lado, os autores sugerem que a pesquisa do vírus na saliva seja usado como um método de triagem para o diagnóstico da infecção congênita pelo CMV, para a identificação dos casos assintomáticos ao nascimento, o que representa acima de 90% dos infectados, e proporcionar um acompanhamento destas crianças por vários anos para prevenção das seqüelas.

## 5. CONCLUSÃO

1. A incidência de infecção congênita pelo citomegalovírus, avaliada através da dosagem de anticorpos IgM específicos, pelo método ELISA, no sangue do cordão umbilical de 663 recém-nascidos na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, foi de 2,1%.

2. A incidência de infecção congênita pelo CMV, avaliada mediante o isolamento do vírus da saliva de 663 recém-nascidos da Fundação Santa Casa de Misericórdia, foi de 3,2%.

3. Comparando-se a incidência de infecção congênita pelo citomegalovírus através de duas técnicas diferentes, verificou-se que o isolamento do vírus da saliva é um método mais eficaz para o diagnóstico desta entidade nosológica. A análise estatística pelo Teste de McNemar dos Pares Discordantes ( $p=0.0233$ ) e Teste do Qui-Quadrado da Homogeneidade ( $p<0,01$ ), mostrou que o resultado é significativo.

4. Sintomatologia sugestiva de infecção congênita esteve presente em 28,5% (6) dos recém-nascidos infectados.

5. Baixo peso ao nascer foi observado em 11,4% dos recém-nascidos.

6. A prevalência de anticorpos IgG específicos para o CMV, pesquisados pelo método ELISA, foi de 90,2% nas 663 gestantes atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará.

7. Analisando-se o número de consultas realizado pelas 663 mulheres durante o período gestacional, observou-se que uma em cada quatro mulheres não realizou nenhuma consulta durante a gravidez.

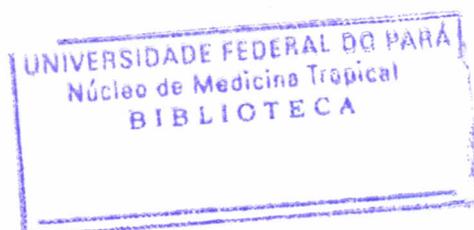
8. A idade das mães dos 21 recém-nascidos com infecção congênita pelo citomegalovírus foi inferior a 25 anos.

9. As 663 gestantes do presente estudo apresentam nível socioeconômico baixo.

## ABSTRACT

Cytomegalovirus (CMV) is a DNA virus classified in the *Hesperiviridae* family and *Betaherpesvirinae* subfamily. It has a worldwide distribution and may cause congenital and perinatal infection, as well acquired infection in children and adults. CMV has been associated with high rates of morbidity and mortality among immunodeficient or immunosuppressed patients. This investigation was carried out from November 1994 to May 1995 in the maternity of a local public hospital - "Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará" - and the main objective was to assess the incidence of congenital CMV infection among neonates in Belém, Brazil. We enrolled 663 newborns and their mothers to participate in our study. The weights of neonates ranged from 900 to 5450 g (mean of 3046 g) and low birth weights were recorded in 11,4% of them. For diagnostic purposes, clinical specimens (spittle) were inoculated on to culture cell lines prepared from human foreskin fibroblasts, yielding virus isolation in 21 (3,2%) of patients. Cord blood samples have been tested for the presence of CMV-specific IgM by using ELISA, with positive results in 14 (2,1%) patients. Differences of sensitivities between these methods were analysed by using the McNemar test (Comparing proportions in paired groups) and the  $\chi^2$  test of homogeneity, as appropriate. Virus isolation proved to be more sensitive than serology, with p values of 0,0233 and less than 0,01 for the former and latter statistical tests, respectively. Six (28,5%) among the 21 infected neonates were shown to be congenitally infected, presenting with typical signs and symptoms such as: microcephaly (4), prematurity (3), hepatosplenomegaly (2), low birth weight (2) and jaundice (1). Sera from mothers were

also tested for the presence of CMV-antibody by ELISA. The detection of specific IgG was recorded in 90,2% of them, whereas IgM seropositivity was detected in 4 (19,0%) of those 21 mothers of infected children. Data gathered during routine interviews with mothers revealed low social economical level and indicated that 26,4% of them had no prenatal medical assistance. Their ages ranged from 12 to 42 years (mean age of 22,2) and all mothers of CMV-infected children were aged less than 25 years.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, S.P. Cytomegalovirus and child day care: evidence for an increased infection rate among day-care workers. **The New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 19, p. 1290-1296, nov. 1989.
- AHLFORS, K. Epidemiological studies of congenital cytomegalovirus infection. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, n. 34, p. 1-36, 1982. Suplemento
- AHLFORS, K., FORSGREN, M., IVARSSON, S. A., HARRIS, S., SVANBERG, L. Congenital cytomegalovirus infection: on the relation between type and time of maternal infection and infant's symptoms. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 15, p. 129-138, 1983.
- ALFORD, C. A., HAYES, K., BRITT, W. J. Primary cytomegalovirus infection in pregnancy: comparison of antibody responses to virus-encoded proteins between women with and without intrauterine infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 158, n. 5, p. 917-924, Nov. 1988.
- ALFORD, C. A., BRITT, W. J. Cytomegalovirus. In : FIELDS, B. N., KNIPE, D. M. **Virology**. 2. ed. New York : Raven Press, 1990. p. 1981-2010.
- ATTARD-MONTALTO, S.P., ENGLISH, M.C., STIMMLER, L., SNODGRASS, G.J. Ganciclovir treatment of congenital cytomegalovirus infection: a report of two cases. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, p. 385-388, 1993.
- BALCAREK, K.B., WARREN, W., SMITH, R.J., LYON, M.D., PASS, R.F. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection by detection of virus in saliva. **The**

- Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 1433-1435, Jun. 1993.
- BARBOSA, L.T., CAVALCANTI, A.R., DIAS, L.B. Doença citomegálica de inclusão. **An. Nestlé**, v. 58, p. 4-45, 1959.
- BARTON, B. W., TOBIN, J. O'H. The effect of idoxuridine on the excretion of cytomegalovirus in congenital infection. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 173, n. 1, p. 90-95, Jul. 1970.
- BASKAR, J.F., FURNARI, B., HUANG, E.S. Demonstration of developmental anomalies in mouse fetuses by transfer of murine cytomegalovirus DNA-injected eggs to surrogate mothers. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 1288-1295, Jun. 1993.
- BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística**. 2. ed. rev. Ribeirão Preto [s. n.] 1991, 284 p.
- BERQUÓ, E.S., SOUZA, J.M.P., GOTLIEB, S.L.D. **Bioestatística**. São Paulo: EPU, 1981. p. 294-295.
- BENJAMIN, D.R. Immunoenzimatic methods. In : LENNETTE, E.H., SCHMIDT, N.J. **Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections**. Washington, DC. : American Public Health Association, 1979. p.153-170.
- BIRNBAUM, G., LYNCH, J.I., MARGILETH, A.M., LONERGAN, W.M., SEVER, J.L. Cytomegalovirus infections in newborn infants. **The Journal of Pediatrics**, v. 75, n. 5, p. 789-795, Nov. 1969.
- BOIVIN, G., ERICE, A., CRANE, D.D., DUNN, D.L., BALFOUR JR., H.H. Ganciclovir susceptibilities of cytomegalovirus (CMV) isolates from solid organ transplant recipients with CMV viremia after antiviral prophylaxis. **The Journal of Infectious Diseases**,

v. 168, p. 332-335, Aug. 1993.:

BOPPANA, S.B., PASS, R.F., BRITT, W.J., STAGNO, S., ALFORD, C.A. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 11, n. 2, p. 93-99, 1992.

BOPPANA, S.B., PASS, R.F., BRITT, W.J. Virus-specific antibody responses in mothers and their newborn infants with asymptomatic congenital cytomegalovirus infections. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 72-77, Jan. 1993.

BRITO, T., MILANESI, M.L. Incidência da doença de inclusão citomegálica em necrópsias de rotina. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 6, n. 3, p. 119-122, maio/jun. 1964.

BRITT, W.J., ALFORD, C. A. Cytomegalovirus. In: FIELDS, B.N., KNIPE, D. M., HOWLEY, P.M. **Virology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p. 2493-2523.

CABAU, N., LABADIE, M.D., VESIN, C., FEINGOLD, J., BOUÉ, A. Seroepidemiology of cytomegalovirus infections during the first years of life in urban communities. **Archives of Disease in Childhood**, v. 54, n. 4, p. 286-290, Apr. 1979.

CANDEIAS, J A N. **Laboratório de Virologia** : manual técnico. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1996. p. 59-60. (Acadêmica, 4).

CARACTERÍSTICAS demográficas da população. **Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 54, p. 2-1 - 2-231, 1994.

CARVALHO, R.P.S., PANNUTI, C.S., AMATO NETO, V., OSELKA, G. W., ANGELO, M.J.O. Estudo soro-epidemiológico da infecção pelo citomegalovírus em São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 18, n. 1, p. 1-5,

jan./fev. 1976.

CH'IEN, L.T., CANNON, N.J., WHITLEY, R.J., DIETHELM, A.G., DISMUKES, W.E., SCOTT, C.W., BUCHANAN, R.A., ALFORD, C.A. Effect of adenine arabinoside on cytomegalovirus infections. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 320, n. 1, p. 32-39, Jul. 1974.

COLE, R., KUTTNER, A.G. A filterable virus present in the submaxillary glands of guinea pigs. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 44, p. 855-871, 1926.

CYTOMEGALOVIRUS infection in the north west of England. A report on a two-year study. **Archives of Disease in Childhood**, v. 45, n. 242, p. 513-522, Aug. 1970.

CORREIA, L.L., McAULIFFE, J.F. Saúde Materno-Infantil. In: ROUQUAYROL, M.Z. **Epidemiologia & saúde**. 4. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1993. p.315-342.

COWDRY, E.V., SCOTT, G.H. Nuclear inclusions suggestive of virus action in the salivary glands of the monkey, *Cebus fatuellus*. **American Journal of Pathology**, v. 11, p. 647-657, 1935.

CRIANÇAS e adolescentes: indicadores sociais. Rio de Janeiro: IBGE, 1992, 159 p.

DEAN, A.G., DEAN, J.A., COULOMBIER, D., BRENDDEL, K.A., SMITH, D.C., BURTON, A.H., DICKER, R.C., SULLIVAN, K., FAGAN, R.F., ARNER, T.G. **Epi Info, Version 6**: a word processing database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Atlanta: Centers of Disease Control and Prevention, 1994.

DEMMLER, G.J., SIX, H.R., HURST, S.M, YOW, M.D. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgM-class antibodies to cytomegalovirus. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 153, n. 6, p. 1152-1155, Jun. 1986.

- EARLE, W.R. Long-term, large-scale, tissue culture. In : WOLSTENHOLME, G.E.W., CAMERON, M.P. **Preservation and transplantation of normal tissues**. London: CIBA Foundation, 1954. p. 44-59.
- EINSELE, H., EHNINGER, G., STEIDLE, M., VALLBRACHT, A., MÜLLER, M., SCHMIDT, H., SAAL, J.G., WALLER, H.D., MÜLLER, C.A. Polymerase chain reaction to evaluate antiviral therapy for cytomegalovirus disease. **The Lancet**, v. 338, p. 1170-1172, Nov. 1991.
- ELEK, S. D., STERN, H. Development of a vaccine against mental retardation caused by cytomegalovirus infection in utero. **The Lancet**, v. 1, n. 7845, p. 1-5, Jan. 1974.
- EMANUEL, I., KENNY, G.E. Cytomegalic inclusion disease of infancy. **Pediatrics**, v. 38, n. 6, p. 957-965, Dec. 1966.
- EMBIL, J.A., OZERE, R.L., HALDANE, E.V. Congenital cytomegalovirus infection in two siblings from consecutive pregnancies. **The Journal of Pediatrics**, v. 77, n. 3, p. 417-421, Sept. 1970.
- EMÖDI, G., O'REILLY, R., MÜLLER, A., EVERSON, L.K., BINSWANGER, U., JUST, M. Effect of human exogenous leukocyte interferon in cytomegalovirus infections. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 133, p. A199-A204, Jun. 1976. Suplemento
- FARBER, S., WOLBACH, S.B. Intranuclear and cytoplasmic inclusions ("protozoan-like bodies") in the salivary glands and other organs of infants. **The American Journal of Pathology**, v. 8, n.2, p. 123-135, Mar. 1932.
- FARIA, J. Citomegalia em crianças: primeiros casos registrados no Brasil. **Revista Paulista**

de **Medicina**, v. 50, n. 3, p. 153-160, mar. 1957.

FETTERMAN, G.H. A new laboratory aid in the clinical diagnosis of inclusion disease of infancy. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 22, p. 424-425, 1952.

FOWLER, K.B., STAGNO, S., PASS, R. F., BRITT, W.J., BOIL, T.J., ALFORD, C.A. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. **The New England Journal of Medicine**, v. 326, n. 10, p. 663-667, Mar. 1992.

FOWLER, K.B., STAGNO, S., PASS, R.F. Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn populations, 1980-1990. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 168, p. 552-556, Sept. 1993.

GARCIA, A.G.P. Citomegalia na infância: apresentação de 4 casos. **O Hospital**, v. 55, n. 1, p. 23-35, jan. 1959.

GEHRZ, R.C., KNORR, S.O., MARKER, S.C., KALIS, J.M., BALFOUR JR, H.H. Specific cell-mediated immune defect in active cytomegalovirus infection of young children and their mothers. **The Lancet**, v. 2, p. 844-847, Oct. 1977.

GEHRZ, R.C., CRISTIANSO, W.R., LINNER, K.M., CONROY, M.M., McCUE, S.A., BALFOUR JR., H.H. Cytomegalovirus-specific humoral and cellular immune responses in human pregnancy. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 143, n. 3, p. 391-395, Mar. 1981.

GONCZOL, E., IANACONE, J., FURLINI, G., HO, W., PLOTKIN, S.A. Humoral immune response to cytomegalovirus Towne vaccine strain and to Toledo Low-passage strain. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 159, n. 5, p. 851-858, May 1989.

GOODPASTURE, E.W., TALBOT, F.B. Concerning the nature of "protozoan-like" cells

- in certain lesions of infancy. **American Journal of Diseases of Children**, v. 21, n. 5, p. 415-425, May 1921.
- GRIFFITHS, P.D., CAMPBELL-BENZIE, A., HEATH, R.B. A prospective study of primary cytomegalovirus infection in pregnant women. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 87, n. 4, p. 308-314, Apr. 1980.
- GROSSBERG, H.S., BONNEM, E.M., BUHLES, W.C. GM-CSF with ganciclovir for the treatment of CMV retinitis in AIDS. **The New England Journal of Medicine**, v. 320, n. 23, p. 1560, Jun. 1989.
- GUNBY, P. Cytomegalovirus vaccine work progressing. **JAMA**, v. 248, n. 12, p. 1424-1425, Sep. 1982.
- HANDSFIELD, H.H, CHANDLER, S.H., CAINE, V.A., MEYERS, J.D., COREY, L., MEDEIROS, E., McDOUGALL, J.K. Cytomegalovirus Infection in sex partners: evidence for sexual transmission. **The Journal of Infectious Diseases**, v.151, n. 2, p. 344-348, Feb. 1985.
- HANSHAW, J. B. Clinical significance of cytomegalovirus infection. **Postgraduate Medicine**, v. 35, p. 472-480, May 1964.
- HANSHAW, J. B, STEINFELD, H. J., WHITE, C. J. Fluorescent-antibody test for cytomegalovirus macroglobulin. **The New England Journal of Medicine**, v. 279, n. 11, p. 566-570, Sep. 1968.
- HANSHAW, J. B. Congenital cytomegalovirus infection: a fifteen year perspective. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 123, n. 5, p. 555-561, May 1971.
- HANSHAW, J. B, SCHEINER, A. P., MOXLEY, A. W., GAEV, L., ABEL, V.,

- SCHEINER, B. School failure and deafness after "silent" congenital cytomegalovirus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 9, p. 468-470, Aug. 1976.
- HO, M. Cytomegalovirus infections and diseases. **DM/Disease-a-Month**, v. 24, n. 12, p. 4-58, Sep. 1978.
- HUANG, E.S., ALFORD, C.A., REYNOLDS, D.W., STAGNO, S., PASS, R.F. Molecular epidemiology of cytomegalovirus infection and their infants. **The New England Journal of Medicine**, v. 303, n. 17, p. 958-962, Oct. 1980.
- JACKSON, L. An intracellular protozoan parasite of the ducts of the salivary glands of the guinea-pig. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 347-350, 1920.
- JACOBSON, M.A., MILLS, J. Serious cytomegalovirus disease in the Acquired Immuno-deficiency Syndrome (AIDS) Clinical findings, diagnosis, and treatment. **Annals of Internal Medicine**, v. 108, n. 4, p. 585-594, Apr. 1988.
- JESIONEK, A., KIOLEMENOGLOU, B. Ueber einen befund von protozoenartigen gebilden in der organen eines hereditär-luetischen fötus. **Münchener Medizinische Wochenschrift**, v. 51, n. 43, p. 1905-1907, 1904.
- KANGRO, H.O. Evaluation of a radioimmunosay for IgM-class antibodies against cytomegalovirus. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 61, p. 512-520, 1980.
- KRECH, U., KONJAJEV, Z., JUNG, M. Congenital cytomegalovirus in siblings from consecutive pregnancies. **Helvetica Paediatrica Acta**, v. 26, n. 4, p. 355-362, 1971.
- KRECH, U. Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the

- world. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 49, n. 1, p. 103-106, 1973.
- KUMAR, M.L., PROKAV, S.L. Experimental primary cytomegalovirus infection in pregnancy: timing and fetal outcome. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 145, n. 1, p. 145-146, Jan. 1983.
- LAMY, M.E., MULONGO, K.N., GADISSEUX, J.F., LYON, G., GAUDY, V., VAN LIERDE, M. Prenatal diagnosis of fetal cytomegalovirus infection. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 166, n. 1, p. 91-94, Jan. 1992.
- LANG, D. J., KUMMER, J. F. Cytomegalovirus in semen: observations in selected populations. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 132, n. 4, p. 472-473, Oct. 1975.
- LARKE, R P.B., WHEATLEY, E., SAIGAL, S., CHERNESKY, M. A. Congenital cytomegalovirus infection in an urban canadian community. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 142, n. 5, p. 647-653, Nov. 1980.
- LEINIKKI, P., GRANSTRÖM, M., SANTAVUORI, P., PETTAY, O. Epidemiology of cytomegalovirus infections during pregnancy and infancy. A prospective study. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, p. 165-171, 1978.
- LINHARES, M.I.S., ANDRADE, G.P., COELHO, A.F., TATENO, S., EIZURU, Y., MINAMISHIMA, Y. Prevalence of cytomegalovirus antibodies in brazilian women of childbearing age and newborns. **Acta Paediatrica Japonica**, v. 31, n. 5, p. 620-622, Oct. 1989.
- LUBCHENCO, L.O., HANSMAN, C., BOYD, E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestacional ages from 26 to 42 weeks. **Pediatrics**, v. 37, n. 3, p. 403-408, 1966.

- MacDONALD, H., TOBIN, J. O'H. Congenital cytomegalovirus Infection: a collaborative study on epidemiological, clinical and laboratory findings. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 20, p. 471-482, 1978.
- MÃNEZ, R. Transmision de la infeccion por citomegalovirus atraves de las transfusiones sanguineas. **Sangre**, Barcelona, v. 38, n. 3, p. 201-204, jun. 1993.
- MARGILETH, A.M. The diagnosis and treatment of generalized cytomegalic inclusion disease of the newborn. **Pediatrics**, v. 15, p. 270-283, 1955.
- MARSANO, L., PERRILO, R. P., FLYE, M. W., HANTO, D.W., SPITZER, E.D., THOMAS, J.R., MURRAY, P.R., WINDUS, D.W., BRUNT, E.M., STORCH, G.A. Comparison of culture and serology for the diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney and liver transplant recipients. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 161, p. 454-461, Mar. 1990.
- McCARTHY, A.L., MALIK PEIRIS, J.S., TAYLOR, C.E., GREEN, M.A., SVILAND, L., PEARSON, A.D.J., MALCOLM, A.J. Increase in severity of graft versus host disease by cytomegalovirus. **Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 542-544, 1992.
- McCORDOCK, H.A., SMITH, M. G. The visceral lesions produced in mice by the salivary gland virus of mice. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 63, p. 301-310, 1936.
- McCRACKEN JR., G.H., SHINEFIELD, H.R., COBB, K., RAUSEN, A.R., DISCHE, M., EICHENWALD, H.F. Congenital cytomegalic inclusion disease. A longitudinal study of 20 patients. **American Journal of Diseases of Children**, v. 117, p. 522-539, May 1969.
- McCRACKEN JR., G.H., LUBY, J.P. Cytosine arabinoside in the treatment of congenital

cytomegalic inclusion disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 80, n. 3, p. 488-495, Mar. 1972.

McDOUGALL, J.K., HARNDEN, D.G. Vaccination against cytomegalovirus? **The Lancet**, v. 1, p. 135-136, 1974.

MEDEARIS JR., D.N. Observations concerning human cytomegalovirus infection and disease. **Johns Hopkins Medical Journal**, v. 114, p. 181-211, 1964.

MELISH, M.E., HANSHAW, J.B. Congenital cytomegalovirus infection: developmental progress of infants detected by routine screening. **American Journal of Diseases of Children**, v. 126, p. 190-194, Aug. 1973.

MONIF, G.R.G., HILDEBRANDT, R.J., WEBER, J.M. Prevalence of complement-fixing antibodies to cytomegalovirus in a semirural southern county. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 108, n. 3, p. 372-374, Oct. 1970.

MONIF, G.R.G., EGAN, E.A., HELD, B., EITZMAN, D.V. The correlation of maternal cytomegalovirus infection during varying stages in gestation with neonatal involvement. **The Journal of Pediatrics**, v. 80, n. 1, p. 17-20, Jan. 1972.

MONTEIRO, M.F.G. Baixo peso ao nascer. In: MONTEIRO, M.F.G., CERVINI, R. (Org.). **Perfil estatístico de crianças e mães no Brasil** : aspectos de saúde e nutrição de crianças no Brasil. 1989. Rio de Janeiro : IBGE, 1992. p. 11-18.

MONTGOMERY, J. R., YOUNGBLOOD, L., MEDEARIS JR., D.N. Recovery of cytomegalovirus from the cervix in pregnancy. **Pediatrics**, v. 49, n. 4, p. 524-531, Apr. 1972.

MONTGOMERY, J. R., MASON JR., E.O., WILLIAMSON, A.P., DESMOND, M.M.,

- SOUTH, M.A. Prospective study of congenital cytomegalovirus infection. **Southern Medical Journal**, v. 73, n. 5, p. 590-593, May 1980.
- NIELSEN, S.L., RONHOLM, E., SORENSEN, I., ANDERSEN, H.K. Detection of immunoglobulin G antibodies to cytomegalovirus antigens by antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 24, n. 6, p. 998-1003, 1986.
- NIGRO, G., SCHOLZ, H., BARTMANN, U. Ganciclovir therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants: A two-regimen experience. **The Journal of Pediatrics**, v. 124, n. 2, p. 318-322, 1994.
- PAGANO, J. S., HUANG, E.S. Vaccination against cytomegalovirus? **The Lancet**, p. 316-317, Fev. 1974. (Letter)
- PALACIOS, O., CABAU, N., HORAUD, F., PLOTKIN, S. Serologic survey of antibodies to cytomegalovirus in women and infants in Lima, Peru. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 147, n. 4, p. 777, Apr. 1983.
- PANNUTI, C.S. **Infecção congênita pelo citomegalovírus**: estudo em dois hospitais públicos no município de São Paulo. São Paulo, 1983. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- PANNUTI, C.S, VILAS-BOAS, L.S., ANGELO, M.J.O., CARVALHO, R.P.S., SEGRE, C.M. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in two socioeconomically distinct populations of a developing country. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 27, n. 2, p. 105-107, mar./abr. 1985.
- PANNUTI, C. S, VILAS BOAS, L. S., AMATO NETO, V, ANGELO, M. J. O.,

- SABBAGA, E. Detecção de anticorpos IgM nas infecções primárias e secundárias pelo citomegalovírus em pacientes submetidos a transplante renal. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 29, n. 5, p. 317-322, set./out. 1987.
- PASS, R.F., STAGNO, S., MYERS, G.J., ALFORD, C.A. Outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of long-term longitudinal follow-up. **Pediatrics**, v. 66, n. 5, p. 758-762, Nov. 1980.
- PASS, R.F., STAGNO, S., BRITT, W.J., ALFORD, C.A. Specific cell-mediated immunity and the natural history of congenital infection with cytomegalovirus. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 148, n. 6, p. 953-961, Dec. 1983.
- PASS, R.F., HUTTO, C., RICKS, R., CLOUD, G.A. Increased rate of cytomegalovirus infection among parents of children attending day care centers. **The New Journal of Medicine**, v. 314, n. 22, p. 1414-1418, May 1986.
- PASS, R.F., BRITT, W. J., STAGNO, S. Cytomegalovirus. In: LENNETTE, E. H., LENNETTE, D.A., LENNETTE, E.T. **Diagnostic procedures for viral, rickettsial, and chlamydial infections**. 7. ed. Washington, DC.: American Public Health Association, 1995. p.253-271.
- PHILLIPS, C. Congenital cytomegalovirus disease. Is prevention possible? **Progress in Medical Virology**, v. 23, p. 62-68, 1977.
- PLOTKIN, S. A., FURUKAWA, T., ZYGRAICH, N., HUYGELEN, C. Candidate cytomegalovirus strain for human vaccination. **Infection and Immunity**, v. 12, n. 3, p. 521-527, Sep. 1975.
- PLOTKIN, S.A, STARR, S.E., FRIEDMAN, H.M., GÖNCZÖL, E., WEIBEL, R.E.

- Protective effects of Towne cytomegalovirus vaccine against low-passage cytomegalovirus administered as a challenge. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 159, n. 5, p. 860-865, May 1989.
- POLLARD, R.B., RAND, K.H., ARVIN, A.M., MERIGAN, T.C. Cell-mediated immunity to cytomegalovirus infection in normal subjects and cardiac transplant patients. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 137, n. 5, p. 541-549, May 1978.
- PRABHAKAR, P., BAILEY, A., SMIKLE, M.F., McCAW-BINNS, A., PHIL, M., ASHLEY, D. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, Rubella virus, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus (TORCH) and Syphilis in jamaican pregnant women. **West Indian Medical Journal**, v. 40, n. 4, p. 166-169, Dec. 1991.
- RAND, K.H., MERIGAN, T.C. Cytomegalovirus: a not so innocent bystander. **JAMA**, v. 240, n. 22, p. 2470-2471, Nov. 1978.
- RECTOR, E.J., RECTOR, L.E. Intranuclear inclusions in the salivary glands of moles. **The American Journal of Pathology**, v. 10, p. 629-636, 1934.
- REFINETTI, P., LUISI, A., DELASCIO, D., FONTANESI, D.. Considerações anatómicas sobre dois casos de doença de inclusão citomegálica no recém-nascido. **Maternidade e Infância**, v. 19, n. 1, p. 413-430, jan./mar. 1960.
- REYNOLDS, D.W., STAGNO, S., HOSTY, T.S., TYLLER, M., ALFORD JR., C.A. Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 289, n. 1, p. 1-5, Jul. 1973.
- REYNOLDS, D.W., STAGNO, S., STUBBS, K.G., DAHLE, A.J., LIVINGSTON, M.M., SAXON, S.S., ALFORD, C.A. Inapparent congenital cytomegalovirus infection with

elevated cord IgM levels. Causal relation with auditory and mental deficiency. **The New England Journal of Medicine**, v. 290, n. 6, p. 291-296, Feb. 1974.

REYNOLDS, D.W, DEAN, P.H., PASS, R.F., ALFORD, C.A. Specific cell-mediated immunity in children with congenital and neonatal cytomegalovirus infection and their mothers. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 140, n. 4, p. 493-499, Oct. 1979.

REYNOLDS, D. W, STAGNO, S., ALFORD, C. A. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In : LENNETTE, E. H.; SCHMIDT, N.J. **Diagnosis procedures for viral, rickettsial and chlamydial infection**. Washington, DC.: American Public Health Association, 1979. p. 399-439.

ROWE, W.P., HARTLEY, J.W., WATERMAN, S., TURNER, H.C., HUEBNER, R.J. Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, New York**, v. 92, p. 418-424, 1956.

SAIGAL, S., LUNYK, O., LARKE, R.P.B., CHERNESKY, M.A. The outcome in children with congenital cytomegalovirus infection: a longitudinal follow-up study. **American Journal of Diseases of Children**, v. 136, p. 896-901, Oct. 1982.

SANDLER, S.G, GRUMET, F.C. Posttransfusion cytomegalovirus infections. **Pediatrics**, v. 69, n. 5, p. 650-653, May 1982.

SCHOPFER, K., LAUBER, E., KRECH, U. Congenital cytomegalovirus infection in newborn infants of mothers infected before pregnancy. **Archives of Disease in Childhood**, v. 53, p. 536-539, 1978.

SCHWEBKE, K., HENRY, K., BALFOUR, H.H., OLSON, D., CRANE, T., JORDAN,

M.C. Congenital cytomegalovirus infection as a result of nonprimary cytomegalovirus disease in a mother with acquired immunodeficiency syndrome. **The Journal of Pediatrics**, v. 126, n. 2, p. 293-295, Feb. 1995.

SEGONDY, M., BARAT, L., MOURAD, G., HUGUET, M.F., SERRE, A., VENDRELL, J. P. Cytomegalovirus-specific in vitro antibody production by peripheral blood lymphocytes from renal transplant recipients with CMV infection. **Journal of Medical Virology**, v. 40, p. 200-203, 1993.

SHARON, N. The use of human foreskin cell cultures for isolation of herpesvirus group in the diagnostic laboratory. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 66, n. 1, p. 65-72, Jul. 1976.

SMITH, M.G. Propagation of salivary gland virus of the mouse in tissue cultures. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, New York**, v. 86, p. 435-440, 1954.

\_\_\_\_\_. Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SGV) disease. **Proceedings of the Society for Experimental Biologie and Medicine, New York**, v. 92, p. 424-430, 1956.

SOHN, Y.M., BALCAREK, K.B., CLOUD, G.A., PASS, R.F. Cytomegalovirus infection in sexually active adolescents. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 163, p. 460-463, Mar. 1991.

STAGNO, S., REYNOLDS, D.W., AMOS, C.S., DAHLE, A.J., McCOLLISTER, F.P., MOHINDRA, I., ERMOCILLA, R., ALFORD, C.A. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegalovirus and toxoplasma

- infections. **Pediatrics**, v. 59, n. 5, p. 669-677, May 1977. b
- STAGNO, S., REYNOLDS, D.W., HUANG, E.S., THAMES, S.D., SMITH, R.J., ALFORD JR., C.A. Congenital cytomegalovirus infection: occurrence in an immune population. **The New England Journal of Medicine**, v. 296, n. 22, p. 1254-1258, Jun. 1977. a
- STAGNO, S, PASS, R.F., REYNOLDS, D.W., MOORE, M.A., NAHMIAS, A.J., ALFORD, C. A. Comparative study of a diagnostic procedures for congenital cytomegalovirus infection. **Pediatrics**, v. 65, n. 2, p. 251-257, Feb. 1980. b
- STAGNO, S, REYNOLDS, D.W., PASS, R.F., ALFORD, C.A. Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 302, n. 19, p. 1073-1076, May 1980. a
- STAGNO, S, PASS, R.F., DWORSKY, M.E., ALFORD, C.A. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. **Clinical obstetrics and Gynecology**, v. 25, n. 3, p. 563-576, Sep. 1982.
- STAGNO, S, TINKER, M.K., ELROD, C., FUCCILLO, D.A., CLOUD, G., O'BEIRNE, A.J. Immunoglobulin M antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay and radioimmunoassay in the diagnosis of cytomegalovirus infections in pregnant women and newborn infants. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, p. 930-935, 1985.
- STARR, J.G., GOLD, E.. Screening of newborn infants for cytomegalovirus infection. **The Journal of Pediatrics**, v. 73, p. 820-824, Dec. 1968.
- STARR, J.G, BART, R.D., GOLD, E.. Innaparent congenital cytomegalovirus infection. Clinical and epidemiologic characteristics in early infancy. **The New England Journal**

- of Medicine**, v. 282, n. 19, p. 1075-1078, May 1970.
- STARR, S.E., TOLPIN, M.D., FRIEDMAN, H.M., PAUCKER, K., PLOTKIN, S.A.  
Impaired cellular immunity to cytomegalovirus in congenitally infected children and their mothers. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 140, n. 4, p. 500-505, Oct. 1979.
- STERN, H., TUCKER, S.M. Cytomegalovirus infection in the newborn and in early childhood. Three atypical cases. **The Lancet**, p.1268-1271, 1965.
- \_\_\_\_\_. Prospective study of cytomegalovirus infection in pregnancy. **British Medical Journal**, v. 2, p. 268-270, May 1973.
- STERN, H. Cytomegalovirus infection in the neonate and its prevention. **Postgraduate Medical Journal**, v. 53, p. 588-591, Oct. 1977.
- SUWANSIRIKUL, S., RAO, N., DOWLING, J.N., HO, M. Primary and secondary cytomegalovirus infection. Clinical manifestations after renal transplantation. **Archives of Internal Medicine**, v. 137, n. 8, p. 1026-1029, Aug. 1977.
- THOMPSON, M.J. Intranuclear inclusions in the submaxillary gland of the rat. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 50, p. 162-170, 1932.
- TIMBURY, M.G. Acyclovir. **British Medical Journal**, v. 285, n. 6350, p. 1223-1224, Oct. 1982.
- TOOKEY, P.A., ADES, A.E., PECKHAM, C. Cytomegalovirus prevalence in pregnant women: the influence of parity. **Archives of Diseases in Childhood**, v. 67, p. 779-783, 1992.
- TSUTSUI, Y., KASHIWAI, A., KAWAMURA, N., KADOTA, C. Microphthalmia and cerebral atrophy induced in mouse embryos by infection with murine cytomegalovirus in

midgestation. **American Journal of Pathology**, v. 143, n. 3, p. 804-812, Sep. 1993.

VERONESI, R.. Citomegalia: revelação da presença dos “vírus das glândulas salivares” em crianças de São Paulo através de inquérito sorológico. **Revista do Hospital das Clínicas**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 249-255, jul./ago. 1959.

VIDAL, J., ARIAS, G., HERNANDEZ, C., UZCATEGUI, O., PONCE, C. Presencia de citomegalovirus en embarazadas normales. **Revista de Obstetricia y Ginecologia da Venezuela**, v. 48, p. 148-150, 1988.

WALMUS, B. F., YOW, M. D., LESTER, J. W., LEEDS, L., THOMPSON, P. K., WOODWARD, R.M. Factors predictive of cytomegalovirus immune status in pregnant women. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 157, n.1, p. 172-177, Jan. 1988.

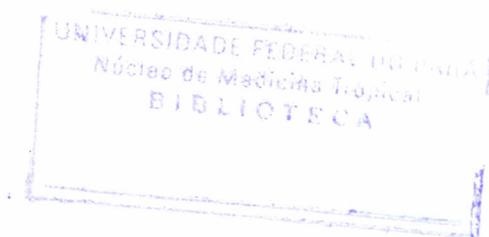
WARREN, W.P., BALCAREK, K., SMITH, R., PASS, R.F. Comparison of rapid methods of detection of cytomegalovirus in saliva with virus isolation in tissue culture. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 786-789, Apr. 1992.

WELLER, T.H., MACAULEY, I.C., CRAIG, J.M., WIRTH, P. Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, New York**, v. 49, p. 4-12, 1957.

WELLER, T.H, HANSHAW, J.B., SCOTT, D'M. Serologic differentiation of viruses responsible for cytomegalic inclusion disease. **Virology**, v. 12, p. 130-132, 1960.

WELLER, T.H, HANSHAW, J.B. Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 266, n. 24, p. 1233-1244, Jun. 1962.

- WELLER, T.H. Cytomegaloviruses: the difficult Years. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 122, n. 6, p. 532-539, Dec. 1970.
- WILLIAMSON, W.D., DESMOND, M.D., LAFEVERS, N., TABER, L., CATLIN, F. I., WEAVER, T. G. Symptomatic congenital cytomegalovirus: disorders of language, learning and hearing. **American Journal of Diseases of Children**, v. 136, p. 902-905, Oct. 1982.
- WILLIAMSON, W.D, DEMMLER, G.J., PERCY, A.K., CATLIN, F.I. Progressive hearing loss in infants with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. **Pediatrics**, v. 90, n. 6, p. 862-866, Dec. 1992.
- WINSTON, D.J., POLLARD, R.B., HO, W.G., GALLAGHER, J.G., RASMUSSEN, L.E., HUANG, S. N. Y., LIN, C. H., GOSSET, T. G., MERIGAN, T. C., GALE, R. P. Cytomegalovirus immune plasma in bone marrow transplant recipients. **Annals of Internal Medicine**, v. 97, n. 1, p. 11-18, Jul. 1982.
- WYATT, J.P., SAXTON, J., LEE, R.S., PINKERTON, H. Generalized cytomegalic inclusion disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 36, n. 3, p. 271-294, Mar. 1950.



**ANEXOS****ANEXO I****DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO**

Por meio deste documento declaro meu consentimento em participar do projeto de pesquisa da incidência de doenças congênitas (citomegalovírus, rubéola, sífilis e toxoplasmose) sediado na FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO PARÁ, prestando informações ao INSTITUTO EVANDRO CHAGAS (IEC), Órgão da FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE /MS, e permitindo a coleta de espécimes biológicos, tais como: urina, sangue e saliva.

O IEC e o projeto se comprometem a manter sigilo das informações, e a me darem conhecimento dos resultados laboratoriais.

Local: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 199 \_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## ANEXO II

**AValiação da incidência de citomegalia congênita em RN na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará**

Registro: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Data do nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_/

Naturalidade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Ocupação: \_\_\_\_\_

Renda individual:

 sem renda    até 1 s.m.    1 a 2 s.m.    2 a 3 s.m.    3 a 5 s.m.    5 a 10 s.m.    mais de 10 s.m.

Escolaridade: até que série estudou \_\_\_\_\_

**Hábitos pessoais**

É fumante:

 sim         não

Se afirmativo:

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_ n° de cigarros que fuma ao dia: \_\_\_\_\_

Consome bebida alcoólica:

 sim         não

Se afirmativo:

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_ Quantidade de bebida ingerida por vez: \_\_\_\_\_

Frequência:     diária     semanal     mensal:

Animais no domicílio:

 sim         não

Se afirmativo, tipo de animal: \_\_\_\_\_

Estado civil:

 solteira    casada    viúva    separada    divorciada    união consensual    não informado

Se for casada ou amasiada, informar dados do cônjuge:

Escolaridade do cônjuge:

Até que série estudou: \_\_\_\_\_

Ocupação do cônjuge: \_\_\_\_\_

Renda do cônjuge:

sem renda  até 1 s.m.  1 a 2 s. m.  2 a 3 s.m.  3 a 5 s.m.  5 a 10 s.m.  mais de 10 s.m.

**Dados do domicílio**

Casa:

própria  alugada  cedida

Tipo de moradia:

madeira  alvenaria  mista  palha  taipa  outra

Nº de cômodos no domicílio:

sala: \_\_\_\_\_ quarto: \_\_\_\_\_ cozinha: \_\_\_\_\_ banheiro: \_\_\_\_\_ alpendre: \_\_\_\_\_ outros: \_\_\_\_\_

Nº de pessoas que moram na casa: \_\_\_\_\_

Fonte de abastecimento de água:

poço  rede geral  rio  igarapé  outro

É feito algum tipo de tratamento na água de beber?  sim  não

Se afirmativo, tipo de tratamento: \_\_\_\_\_

Destino dos dejetos:

fossa de madeira  fossa de alvenaria  céu aberto  escavação  outra

**Dados clínicos e obstétricos:**

Antecedentes morbidos pessoais: \_\_\_\_\_

Sífilis:  sim  não

Se afirmativo, há quanto tempo: \_\_\_\_\_

Fez tratamento:  sim  não

Se afirmativo:

médico  farmácia  auto-medicação  outro Qual: \_\_\_\_\_

Antecedentes morbidos familiares: \_\_\_\_\_

Antecedentes obstétricos:

Nº de gestações anteriores: \_\_\_\_\_

Partos::

normais: \_\_\_\_\_ operatórios: \_\_\_\_\_ abortos: \_\_\_\_\_

Nascidos vivos:

a termo: \_\_\_\_\_ prematuros: \_\_\_\_\_

Natimortos: \_\_\_\_\_ neomortos: \_\_\_\_\_ Partos múltiplos \_\_\_\_\_

Recém-nascido com malformações: ( ) sim ( ) não

Se afirmativo, tipo de malformações: \_\_\_\_\_

Data do último parto: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /

**História obstétrica atual:**

Data da última menstruação: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /

Pré-natal: ( ) sim ( ) não

Nº de consultas: \_\_\_\_\_

Local: \_\_\_\_\_

Exames laboratoriais realizados: \_\_\_\_\_

Grupo sanguíneo (ABO): \_\_\_\_\_ RH: \_\_\_\_\_

Teve contato com portador de rubéola durante a gravidez: ( ) sim ( ) não

Se afirmativo, citar o período gestacional em que ocorreu o contato: \_\_\_\_\_

Teve doença exantemática na gravidez:

Qual : \_\_\_\_\_ Tempo de gravidez: \_\_\_\_\_

Outras doenças: \_\_\_\_\_

Medicamentos usados na gravidez: \_\_\_\_\_

**Dados sobre o parto:**

Tipo de parto: ( ) normal ( ) operatório

Rotura da bolsa: \_\_\_\_\_

Líquido amniótico (aspecto): \_\_\_\_\_

Circular de cordão: \_\_\_\_\_

Nº de artérias do cordão: \_\_\_\_\_

Outras intercorrências do parto: \_\_\_\_\_

**Dados do recém-nascido:**

Data do nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /

Hora: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

Idade gestacional: \_\_\_\_\_ semanas

Peso: \_\_\_\_\_ gramas Altura: \_\_\_\_\_ cm Perímetro cefálico: \_\_\_\_\_ cm Perímetro torácico: \_\_\_\_\_ cm

APGAR: 1° minuto: \_\_\_\_\_ 5° minuto: \_\_\_\_\_

Sinais de sofrimento fetal:  sim  não

Dificuldades respiratórias e/ou cianose:  sim  não

Icterícia:  sim  não

Alterações neurológicas:  sim  não

Quais: \_\_\_\_\_

Alterações cardiovasculares:  sim  não

Quais: \_\_\_\_\_

Alterações oftalmológicas:  sim  não

Quais: \_\_\_\_\_

Visceromegalia:  sim  não

Quais: \_\_\_\_\_

Outras malformações: \_\_\_\_\_

Material coletado:

gestante:  sangue

recém-nascido:  sangue  urina  saliva

**Outras informações sobre a mãe e o recém-nascido**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

