



Infecção congénita por *Citomegalovirus*. Prevalência numa população da Beira Interior

Sofia Almeida¹, Paula Gouveia¹, Arminda Jorge², António Mendes³, Célia Duarte⁴, Nélia Faria⁵, Paulo Paixão⁶

1. Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Cova da Beira, Covilhã
2. Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar Cova da Beira, Covilhã
3. Serviço de Pediatria do Hospital Sousa Martins, Guarda
4. Serviço de Obstetrícia do Centro Hospitalar Cova da Beira, Covilhã
5. Serviço de Obstetrícia do Hospital Sousa Martins, Guarda
6. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa

Resumo

Introdução. O vírus citomegálico humano (CMV) é considerado o primeiro agente de infecção congénita nos países desenvolvidos, afectando cerca de 0,2 a 2% de todos os recém-nascidos. Das crianças infectadas, 10-15% são sintomáticas ao nascimento e das assintomáticas cerca de 13,5% poderão desenvolver sequelas durante os primeiros anos de vida. O objectivo deste estudo é a determinação da prevalência da infecção congénita por este vírus numa população de recém-nascidos da Beira Interior.

Material e Métodos. Foram estudadas 800 urinas de igual número de recém-nascidos pelo método de referência.

Resultados. Das 800 urinas testadas, três foram positivas para CMV, o que corresponde a uma prevalência de 0,4%. Os três recém nascidos não apresentavam sintomas ao nascimento, tendo num deles sido referenciado má evolução ponderal aos 6 meses de vida.

Discussão. A prevalência obtida é inferior à encontrada em outros dois estudos previamente realizados em Portugal, embora os intervalos de confiança dos diferentes estudos sejam parcialmente sobreponíveis.

Palavras chave: Vírus citomegálico humano, Infecção congénita, Prevalência

Acta Pediatr Port 2010;41(4):162-5

Human Cytomegalovirus Congenital Infection. Prevalence in the Beira Interior region

Abstract

Introduction. Human cytomegalovirus (CMV) is the most frequent cause of congenital infection, occurring in 0.2 to 2% of

all live births in developed countries. From all infected babies, 10-15% are symptomatic at birth, and about 13,5% of those born without symptoms, will suffer late sequelae in the first years of life. The aim was to determine the prevalence of CMV congenital infection in a portuguese region – Beira Interior.

Material and Methods. Urine samples from 800 newborns were tested individually by the reference method.

Results. From the 800 urine samples tested, three tested positive for CMV, which represents 0.4 % prevalence. The three newborns had no symptoms at birth, and one was referred because of failure to thrive six months after birth

Discussion. The prevalence achieved in this study is smaller than that obtained in the other two studies previously performed in Portugal, in spite of the confidence intervals of the three studies being partially common.

Key words: Human cytomegalovirus, Congenital infection, Prevalence

Acta Pediatr Port 2010;41(4):162-5

Introdução

O vírus citomegálico humano (CMV) é um vírus da família *Herpesviridae*, com distribuição mundial. É transmitido através do contacto directo com as secreções dos indivíduos infectados¹. Nos indivíduos imunocompetentes causa geralmente uma infecção benigna e de fácil resolução², podendo contudo, ser transmitido da mãe para o feto durante toda a gravidez e causar lesões graves no feto, sobretudo se for resultado de um primeiro contacto com o vírus durante a gestação³. De facto, o CMV é o principal agente de infecção congénita nos países desenvolvidos, afectando cerca de 0,2 a 2% de todos os recém-nascidos⁴, variando este valor com vários factores sócio-eco-

Recebido: 14.05.2009

Aceite: 18.02.2010

Correspondência:

Sofia Isabel Aguiar Almeida
Serviço de Patologia Clínica, Laboratório de Virologia
Centro Hospitalar Cova da Beira
Quinta do Alvito
6200 Covilhã
salmeida@fcsaude.ubi.pt

nómicos ainda não totalmente esclarecidos. Das crianças infectadas durante a gestação por este vírus, 10-15%⁵ irão apresentar sinais e sintomas graves à nascença, como o baixo peso para a idade gestacional, microcefalia, calcificações intracranianas, esplenomegália e/ou hepatomegália e diminuição da acuidade auditiva, podendo mesmo levar à morte da criança infectada^{6,7}. Uma elevada percentagem de crianças sintomáticas, 40-58% de acordo com uma meta-análise recente, e cerca de 13,5% das crianças que nascem sem sintomas, irão sofrer sequelas da infecção por este vírus. Entre as sequelas contam-se alterações da visão, atraso mental, dificuldades de aprendizagem e a surdez neurossensorial, sendo esta última descrita como a mais frequente⁸.

Não existe actualmente nenhuma vacina eficaz, sendo várias as equipas a desenvolver trabalho com esse objectivo⁹. Tendo em consideração que a principal via de transmissão deste vírus às grávidas é o contacto directo com crianças, especialmente os seus próprios filhos¹⁰, tem sido proposto que o aconselhamento de medidas de higiene simples, como lavar as mãos após contacto com urina ou saliva de crianças ou evitar dar beijos na região da boca das crianças, poderia diminuir a transmissão do vírus às mães e conseqüentemente baixar a prevalência desta infecção congénita^{11,12}.

Com o objectivo de diminuir a mortalidade e as sequelas devidas à infecção pelo CMV, são utilizadas terapêuticas com compostos anti-víricos, nomeadamente com o ganciclovir, nas crianças seriamente afectadas^{13,14}. Medidas de suporte não farmacológico, como intervenção precoce com estimulação neuro-sensorial, a terapia da fala e educação especial podem melhorar a qualidade de vida das crianças afectadas, desde que instituídas precocemente^{15,16}.

De tudo o que já foi referido, poder-se-á concluir que a infecção congénita pelo CMV constitui um grave problema não só para a criança infectada e para a sua família, mas também de saúde pública, devido à necessidade permanente de cuidados e acompanhamento que estas crianças requerem. Assim, o conhecimento da dimensão real do problema é prioritário.

Encontramos na literatura vários estudos efectuados noutros países, com o objectivo de conhecer a prevalência da infecção congénita, que permitiram chegar ao intervalo anteriormente referido (0,2 – 2%). Em Portugal, existe apenas um estudo publicado que utilizou o método de referência (pesquisa do vírus na urina por cultura celular) para o diagnóstico da infecção congénita numa população da Amadora, tendo obtido uma prevalência de 0,7% na população estudada¹⁷. Com o objectivo de estudar a prevalência da infecção congénita em Portugal, foi realizado em 2005 um estudo que utilizou uma metodologia descrita por Barbi e col.¹⁸ e por nós testada¹⁹, que consiste na detecção do ADN vírico pela técnica da reacção em cadeia da polimerase (PCR), no sangue de um cartão de Guthrie²⁰ colhido nas primeiras semanas de vida. Este estudo permitiu fazer a primeira abordagem a nível nacional da prevalência da infecção congénita por CMV¹⁹, sendo a prevalência estimada nesse trabalho de 1,05% (intervalo de confiança para 95% de significância: 0,75-1,4). Após este estudo, entendeu-se que seria importante confirmar os resultados obtidos, recorrendo agora ao método de referência. Assim,

este estudo teve como objectivo a determinação da prevalência da infecção congénita pelo CMV numa população da Beira Interior pelo método de referência.

Material e Métodos

População

A participação no presente estudo foi proposta a todas as puérperas de dois Hospitais da Beira Interior, entre Janeiro de 2007 e Dezembro de 2008, tendo sido incluídos no estudo os recém-nascidos cujas mães aceitaram participar no estudo e a quem foi possível efectuar a colheita durante o período de internamento. O número de partos ocorrido no período de tempo em que decorreu o estudo foi de 2723 nos dois Hospitais, sendo o número de nascimentos registados pelo Instituto Nacional de Estatística na região 3380.

Das grávidas seguidas nos dois hospitais, 5% não participaram no estudo por recusa, e 0,8% foram referenciadas para Hospitais Centrais. Foram ainda referenciados para Hospitais Centrais 1,4% dos recém nascidos. Dos 2500 cujas mães aceitaram a participação no estudo, foi possível realizar a colheita a 800 durante o período do internamento.

A cada recém-nascido foi colhida, na primeira semana de vida, uma amostra de urina, com recurso a um saco colector pediátrico. As amostras de urina foram enviadas refrigeradas para o laboratório de virologia, onde foram processadas.

Virúria

As urinas foram testadas por cultura celular pelo método de *shell vial* usando células MRC-5 de acordo com o descrito por Gleaves e colaboradores²⁰. Resumidamente cada amostra de urina foi semeada num shell vial com células MRC-5 confluentes, que após centrifugação a 700g durante uma hora foi incubado a 37°C durante 48 horas. Em seguida as células foram coradas por imunofluorescência indirecta usando uma mistura de anticorpos anti CMV I.E.A. + E.A., e um anticorpo secundário conjugado com fluoresceína (Argene 14-004, Argene SA, Verniolle, França), e observadas no microscópio de epifluorescência para pesquisa de fluorescência nuclear característica.

Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelas comissões de ética dos referidos hospitais e apresentado às puérperas, que livremente decidiram a participação dos seus filhos neste estudo. As mães que concordaram assinaram um protocolo de consentimento informado.

Resultados

Determinação da prevalência da infecção congénita:

Das 800 urinas testadas, três apresentaram um resultado positivo, o que corresponde a uma prevalência de 0,4% [Intervalo de confiança para 95%: 0,1 – 1%].

No seguimento de uma das crianças, assintomática ao nascimento, verificou-se aos 6 meses que apresentava má evolução ponderal de etiologia não esclarecida. As outras duas crianças

não apresentavam na altura do parto sintomas compatíveis com infecção congénita sintomática pelo CMV, mantendo-se assintomáticas um ano após o nascimento.

Discussão

A prevalência da infecção congénita pelo CMV numa população da Beira Interior obtida neste estudo foi de 0,4%. Esta prevalência é inferior à obtida num outro estudo feito em Portugal com o método de referência¹⁷ (0,7%) e inferior à prevalência obtida num estudo a nível nacional, que utilizou a pesquisa do DNA do CMV em *Guthrie cards* (1,05)¹⁹ e que esteve na origem da realização do presente estudo.

Assim, podemos verificar que existem algumas diferenças entre os três estudos até à data realizados em Portugal, apesar de os intervalos de confiança serem parcialmente sobreponíveis. Este facto poderá ser explicado pela baixa amostragem dos estudos realizados pelo método de referência e também pelo facto de estes dois estudos terem sido realizados a nível regional (um na região de Lisboa e o presente estudo na Beira Interior), e assim corresponderem a reais diferenças existentes entre as duas regiões. De referir que qualquer destes dois estudos apresentou uma prevalência inferior ao estudo com maior amostragem e realizado a nível nacional, mas que este último foi baseado na pesquisa do DNA do CMV em *Guthrie cards*. Este método, por nós testado, apresentou uma especificidade de 100% em comparação com o método de referência (ausência de falsos positivos em 280 cartões testados), embora a possibilidade de algum resultado falsamente positivo nos 3600 cartões usados no estudo de prevalência não possa ser excluída.

Podemos inferir dos resultados dos diferentes estudos realizados, que a prevalência a nível nacional não será muito diferente da apresentada numa meta-análise recentemente publicada⁸, que estima a prevalência da infecção congénita em cerca de 0,7%, podendo este valor ligeiramente superior ser explicado pelo seguinte: numa outra meta-análise²¹, a seroprevalência materna foi o factor que isoladamente pareceu mais relevante, contribuindo com 29% da variação obtida na prevalência da infecção dos recém-nascidos. Esta análise estima ainda que um aumento em 10% na seroprevalência resultaria num aumento, aparentemente paradoxal, de 0,26% na prevalência da infecção congénita detectada nos recém-nascidos. Para se compreender este efeito paradoxal, deve-se referir que a probabilidade de transmissão ao feto é maior após infecção primária na grávida²², atingindo valores na ordem dos 32%, segundo a meta-análise acima mencionada²¹. As infecções recorrentes, divididas em reactivações e reinfeções, têm um papel menos claro neste contexto. Várias publicações demonstram que a probabilidade de infecção congénita será bastante menor em grávidas com imunidade prévia para o CMV²³, com valores perto dos 1,4% de transmissão materno-fetal²¹. Além disso, nos casos em que se efectua a transmissão fetal, a gravidade seria igualmente menor por comparação com a infecção primária²⁴. No entanto, as infecções recorrentes têm sido recentemente descritas como responsáveis por um número importante de casos de infecção congénita, embora seja difícil determinar na literatura a real percentagem de casos que se devem a estas infecções²⁵. É possível que, dentro do grupo das infecções recorrentes, sejam as

reinfecções as principais responsáveis pelo atingimento fetal, estando demonstrado que estas podem originar casos de infecção sintomática ao nascimento e o aparecimento de sequelas tardias, embora numa percentagem inferior à da infecção primária^{26, 27}. Assim, a explicação do aumento da prevalência da infecção congénita acompanhar um aumento da seroprevalência provavelmente passará pelo elevado número de mulheres seropositivas que sofrerão reactivação, reactivação esta que, embora em apenas 1,4% dos casos possa transmitir o vírus ao feto, poderia acabar por ser responsável por um número apreciável de casos de infecção congénita. Outra hipótese seria o facto de, numa população com elevada seroprevalência para o CMV, ser consequentemente mais elevado o risco de contacto com o CMV. Assim, nesta população, a probabilidade de reinfeção aumentaria substancialmente e, com ela, o risco de transmissão. De notar que numa população com maior seroprevalência, o risco de adquirir CMV seria maior quer para as seropositivas, com o referido risco de reinfeção, quer para as minoritárias seronegativas, que ficariam em maior risco de adquirir uma infecção primária²¹. Sendo Portugal um dos países europeus com maior seroprevalência, atingindo cerca de 80% em mulheres em idade fértil²⁸, poderia ser esta a explicação para a prevalência ligeiramente superior, relativamente à média internacional encontrada no estudo efectuado a nível nacional.

Em resumo, a prevalência obtida neste estudo foi inferior à obtida em outros dois estudos previamente realizados em Portugal, mas os intervalos de confiança dos diferentes estudos foram parcialmente sobreponíveis. Perante os resultados obtidos, seria desejável a realização de um estudo de prevalência a nível nacional que utilizasse o método de referência. No entanto, este estudo teria de ser multicêntrico, com obtenção de amostras em maternidades das diferentes regiões do país, acautelando as condições logísticas necessárias à realização de um estudo com tais dimensões.

Agradecimentos

- À Comissão de Fomento da Investigação em Cuidados de Saúde pelo financiamento do estudo. Trabalho premiado pela Comissão de Fomento da Investigação em Cuidados de Saúde, Ministério da Saúde, PI nº2/2007
- Aos Enfermeiros dos Serviços de Obstetrícia e Neonatologia dos dois Hospitais envolvidos pela colaboração na recolha das amostras
- Ao Serviço de Patologia Clínica do Hospital Sousa Martins pela colaboração no armazenamento das amostras

Referências

1. Ludwig A, Hengel H. Epidemiological impact and disease burden of congenital cytomegalovirus infection in Europe. *Euro Surveill* 2009; 14:26-32.
2. Britt W. Manifestations of human cytomegalovirus infection: proposed mechanisms of acute and chronic disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008;325:417-70.
3. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992; 326:663-7.

4. Revello MG, Gerna G. Pathogenesis and prenatal diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2004; 29:71-83.
5. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:680-715.
6. Ross SA, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16:44-9.
7. Istaş AS, Demmler GJ, Dobbins JG, Stewart JA. Surveillance for congenital cytomegalovirus disease: a report for the National Congenital Cytomegalovirus Disease Registry. *Clin Infect Dis* 1995; 20:665-70
8. Dollard S, Grosse S, Ross D. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol* 2007;17:355-63.
9. Plotkin SA. Is there a formula for an effective CMV vaccine? *J Clin Virol* 2002; 25:S13 - S21.
10. Fowler KB, Pass RF. Risk Factors for Congenital Cytomegalovirus Infection in the Offspring of Young Women: Exposure to Young Children and Recent Onset of Sexual Activity. *Pediatrics* 2006; 118:e286-92
11. Cannon MJ, Davis KF. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. *BMC Public Health* 2005; 20;5:70.
12. Vauloup-Fellous C, Picone O, Cordier AG, Parent-du-Châtelet I, Senat MV, Frydman R, et al. Does hygiene counseling have an impact on the rate of CMV primary infection during pregnancy?. Results of a 3-year prospective study in a French hospital. *J Clin Virol*. 2009;46 Suppl 4:S49-53
13. Kimberlin DW, Lin CY, Sanchez PJ, Demmler GJ, Dankner W, Shelton M, et al Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr* 2003; 143:16-25
14. Michaels MG, Greenberg DP, Sabo DL, Wald ER. Treatment of children with congenital cytomegalovirus infection with ganciclovir. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:504-9
15. Fowler KB, McCollister FP, Dahle AJ, Boppana S, Britt WJ, Pass RF. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 1997; 130:624-30.
16. Guralnick MJ. Effectiveness of early intervention for vulnerable children: a developmental perspective. *Am J Ment Retard* 1998; 102:319-45
17. Lopo S, Palminha P, Pité M, Caçador T, Vinagre E, Pereira MA, et al. Infecção Congénita pelo vírus citomegálico -Resultados preliminares de estudo prospectivo. [Congenital infection with cytomegalovirus - preliminary results of a prospective study]. *Rev Port D Infecç* 2004b;Aug-Dec:14-7
18. Barbi M, Binda S, Primache V, Luraschi C, Corbetta C. Diagnosis of congenital Cytomegalovirus Infection by detection of viral DNA in dried spots. *Clin Diagn Virol* 1996; 6:27-32.
19. Paixão P, Almeida S, Gouveia P, Vilarinho L, Vaz Osório R. Prevalence of human cytomegalovirus congenital infection in Portuguese newborns. *Euro Surveill*. 2009 Mar 5;14(9):13-5.
20. Gleaves C, Smith T, Shuster E, Pearson G. Comparison of Standard Tube and Shell Vial Cell Culture Techniques for the Detection of Cytomegalovirus in Clinical Specimens. *J Clin Microbiol* 1985; 21:217-21.
21. Kenneson A, Cannon M. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Microbiol* 2007; 17:253-76.
22. Guerra B, Lazzarotto T, Quarta S, Lanari M, Bovicelli L, Nicolosi A, et al. Prenatal Diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:476-82.
23. Fowler KB, Stagno S, Pass RF. Maternal Immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*. 2003;289:1008-11.
24. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Henderson RE, Moore EG, Walton PD, et al. Congenital cytomegalovirus infection: The relative importance of primary and recurrent maternal infection. *N Engl J Med* 1982, 22;306:945-9.
25. Nassens A, Casteels A, Decatte L, Foulon W. A serologic strategy for detecting neonates at risk for congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2005; 146:194-7.
26. Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, Mach M, Britt WJ. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptual immunity. *N Engl J Med* 2001; 344: 1366-71.
27. Ross SA, Fowler KB, Ashrith G, Stagno S, Britt WJ, Pass RF, et al. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. *J Pediatr* 2006;148:332-6.
28. Lopo S, Vinagre E, Palminha P. "Vírus Citomegalo", Avaliação do programa nacional de vacinação. 2º Inquérito serológico nacional - Portugal Continental, 2001-2002. Lisboa: DGS, 2004.