



## ARTIGO ORIGINAL

## Aspectos clínicos observados em crianças apresentando anticorpos IgM para citomegalovírus através do teste de imunofluorescência

*Clinical aspects of children presenting specific IgM antibodies to cytomegalovirus by immunofluorescent test*

Aparecida Y. Yamamoto<sup>1</sup>, Arthur L. Gonçalves<sup>2</sup>, Luiz T. M. Figueiredo<sup>3</sup>, Rita H. Carlucci<sup>4</sup>

### Resumo

Os autores apresentam aspectos clínicos observados em 25 crianças com anticorpos IgM para citomegalovírus (CMV) através do teste de imunofluorescência. Objetivando-se ressaltar a frequência de algumas síndromes clínicas decorrentes da infecção pelo CMV, as crianças foram agrupadas segundo seus principais sinais e sintomas clínicos em: hepatite neonatal, síndrome da mononucleose infecciosa, quadro com alteração neurológica, infecção pulmonar, quadro com alteração ocular e púrpura plaquetopênica. Aspectos relacionados a estas variadas manifestações da citomegalovirose foram discutidos e correlacionados com dados da literatura. A infecção pelo CMV, devido ao seu acometimento multissistêmico, mimetiza grande variedade de patologias, necessitando portanto, ser sempre considerada em seus diagnósticos diferenciais.

*J. pediatr. (Rio). 1994; 70(4):215-219: doença congênita por citomegalovírus, infecção perinatal por citomegalovírus, citomegalovirose adquirida.*

### Introdução

A infecção pelo citomegalovírus (CMV) é bastante frequente em todo o mundo, sendo na maioria das vezes totalmente assintomática ou com sintomatologia inespecífica. Assume particular importância em pacientes imunodeprimidos e recém-nascidos.<sup>1</sup>

Na infância, as manifestações clínicas diferem conforme a faixa etária, caracterizando-se por envolvimento multissistêmico, com tropismo pelo sistema nervoso central, retículo-endotelial e pulmonar.<sup>1,2</sup>

### Abstract

Clinical data observed in 25 children presenting IgM specific antibodies to cytomegalovirus (CMV) by immunofluorescent test are reported. The children were grouped by the presented clinical picture in: neonatal hepatitis, mononucleosis syndrome, pneumonitis, neurologic disease, ocular abnormalities, and thrombocytopenic purpura. Clinical aspects of CMV infection were analyzed and compared with data reported in the literature. CMV infections can involve multiple organs and this viral disease must to be considered on differential diagnosis of many infectious diseases.

*J. pediatr. (Rio). 1994; 70(4):215-219: cytomegalovirus congenital disease, cytomegalovirus perinatal disease, cytomegalovirus postnatally acquired infection.*

O diagnóstico laboratorial das infecções pelo CMV pode ser feito por métodos sorológicos tipo imunofluorescência e ensaio imunoenzimático, bem como pela detecção viral, isolando-se o agente em culturas celulares, detectando-se seus antígenos com anticorpos monoclonais específicos ou seu genoma, por técnicas de hibridização e amplificação do DNA, com a reação em cadeia da polimerase.<sup>3</sup> Embora se saiba que o diagnóstico da citomegalovirose doença idealmente deva ser feito pela detecção viral a partir de amostras oriundas do local acometido, são mais comumente utilizados na rotina diagnóstica os métodos sorológicos, devido à sua disponibilidade em "kits" comerciais, facilidade de execução e baixo custo. A presença de anticorpos tipo IgM, específicos para CMV, associados a quadro clínico compatível, nos permite considerar a infecção pelo CMV.

Objetivamos com este trabalho, descrever as principais características clínicas, sugestivas de infecção por CMV, em crianças que apresentaram anticorpos IgM para este vírus, pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI).

1. Pós-graduanda do Departamento de Pediatria e Puericultura da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.
2. Professor Titular do Departamento de Pediatria e Puericultura da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.
3. Professor Doutor do Departamento de Clínica Médica e Chefe da Unidade de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.
4. Biomédica da Unidade de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

## Material e Métodos

### População estudada

Foram selecionadas 25 crianças de ambos os sexos, de 0 a 5 anos, sendo 4 (16%) recém-nascidas, 14 (56%) lactentes e 7 (28%) pré-escolares. Todas as crianças foram atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em ambulatórios (especializados e de urgência), ou internadas em enfermarias e berçários. Estas crianças apresentavam quadro clínico sugestivo de infecção por CMV e anticorpos IgM específicos para o vírus, detectados através do teste de imunofluorescência indireta.

### Reação de Imunofluorescência Indireta

Colônias de fibroblastos humanos foram cultivadas e infectadas com CMV estirpe AD 169. Após aparecimento evidente do efeito citopático, as células foram tripsinizadas, ressuspensas em PBS e fixadas em "spots" nas lâminas. As células infectadas e não infectadas foram colocadas nos "spots" em proporção de 3:1.

O teste de imunofluorescência indireta foi realizado segundo técnica descrita por Reynolds et al<sup>4</sup>, usando conjugado comercial de fluoresceína (Bioméreaux-França), anti-IgM humano. Os soros testados para pesquisa de IgM foram previamente adsorvidos com partículas de látex sensibilizadas com IgG humana (Labtest), visando afastar resultados falso-positivos, causados pelo fator reumatóide.

A leitura do teste foi realizada em microscópio de fluorescência com lâmpada de mercúrio (Leitz, Alemanha).

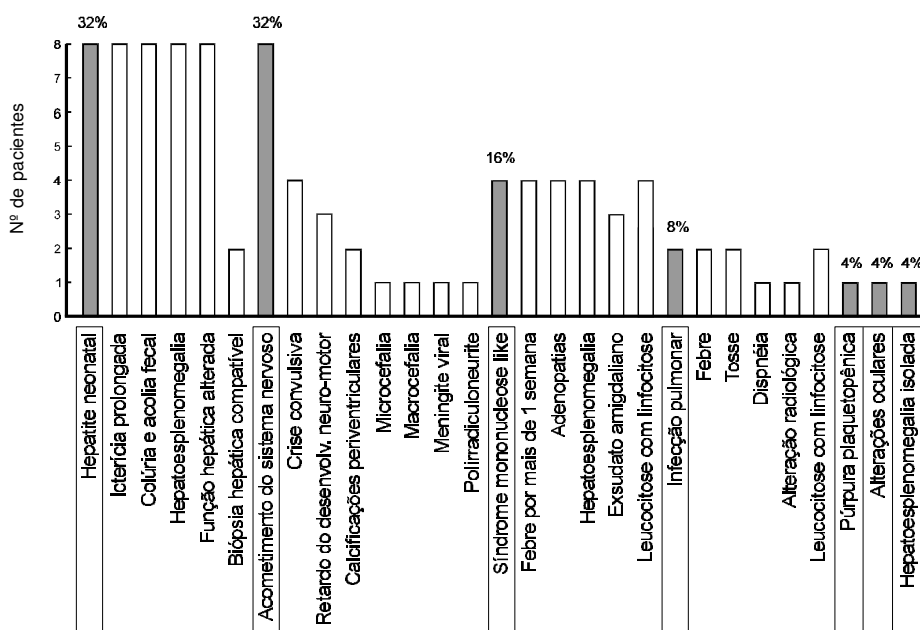
Diagnosticou-se reação positiva IgM específica para CMV quando ocorria fluorescência nítida e intensa, disposta predominantemente na membrana celular.

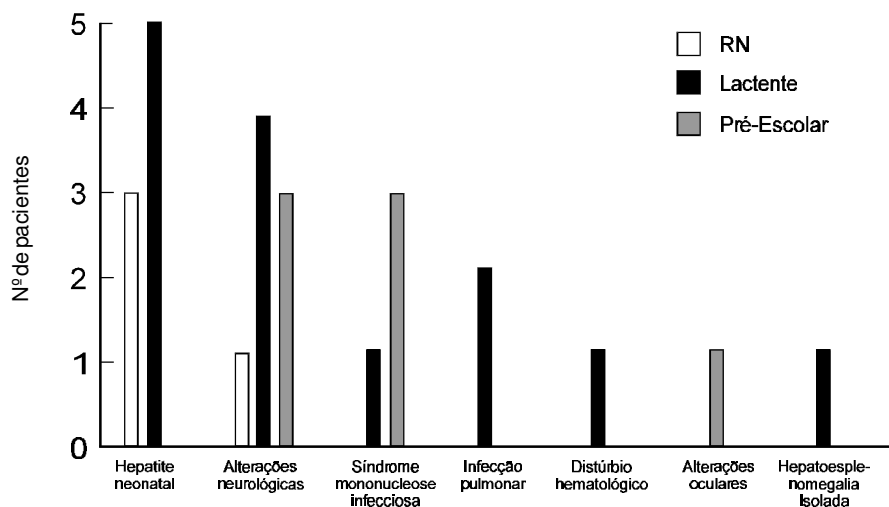
A resposta imune nas infecções congênitas por CMV, detectada pelo teste de imunofluorescência, mostra que os anticorpos IgM específicos podem ser observados por mais de 1 ano<sup>5</sup>, com relatos na literatura de casos com persistência destes anticorpos até a idade de 4 anos<sup>6</sup>. Este fato poderia ser decorrente da prolongada excreção viral e portanto do antígeno, que ocorre nas crianças infectadas intra-útero e sintomáticas, podendo persistir até 5 anos, seguida por um estado de latência com exacerbações periódicas<sup>5</sup>. Nas infecções perinatais, os anticorpos IgM geralmente aparecem entre 4 e 18 semanas após o nascimento<sup>5</sup> e nas infecções adquiridas pós-natal, costumam aparecer na primeira semana da doença e podem persistir por vários meses, principalmente nos casos sintomáticos<sup>2</sup>.

## Resultados

Das 25 crianças estudadas, oito (32%) apresentavam manifestações clínicas de hepatite neonatal, oito (32%) apresentavam quadro clínico neurológico, quatro (16%) mostravam quadro clínico semelhante ao da mononucleose infecciosa, duas (8%) tinham infecção pulmonar, uma (4%) púrpura plaquetopênica, uma (4%) alterações oculares e uma (4%) hepatoesplenomegalia isolada. Sinais e sintomas apresentados pelas crianças foram agrupados em 7 quadros clínicos conforme mostra a figura 1 e estes, foram relacionados segundo faixas etárias na figura 2.

**Figura 1.** Principais aspectos clínicos dos 25 pacientes estudados.



**Figura 2.** Distribuição dos pacientes segundo faixa etária e os principais aspectos clínicos.

### Discussão

As principais manifestações clínicas observadas no grupo das crianças com hepatite neonatal foram: icterícia prolongada com início no período neonatal, acompanhada de colúria e acolia fecal, hepatoesplenomegalia e provas de função hepática alteradas, como bilirrubina direta e transaminases séricas aumentadas. Citamos como exemplo uma criança, com 1 mês e 7 dias, que apresentava icterícia, colúria, acolia fecal e hepatoesplenomegalia desde o nascimento. Exames laboratoriais deste caso mostraram elevação de bilirrubinas (Total=23,8 mg/dl; fração direta=11,2 mg/dl), transaminases (TGO=226 U/ml; TGP=236 U/ml) e da fosfatase alcalina (454 UI). Sorologias para rubéola e lues foram negativas, bem como o teste para deficiência de alfa 1 antitripsina. A biópsia hepática foi compatível com o diagnóstico, e a criança apresentou boa evolução, mantendo, após 4 meses, apenas hepatoesplenomegalia. As manifestações clínicas encontradas nesta criança são compatíveis com hepatite neonatal secundária à infecção congênita pelo CMV. A hiperbilirrubinemia direta e indireta encontrada em 61 a 79% dos casos de infecção congênita pelo CMV pode ser transitória, começando na primeira semana de vida, desaparecendo ao final da segunda, ou persistindo por períodos mais longos. A hepatoesplenomegalia geralmente desaparece entre 2 meses e um ano de vida<sup>7,8</sup>. A lesão hepática na citomegalovirose congênita costuma ter evolução benigna, porém são descritos casos de doença hepática crônica, com persistência das alterações histológicas por 4 anos ou mais.<sup>9,10</sup> Giacchino et al<sup>11</sup>, em um estudo sobre a etiologia da cirrose em crianças, mostraram que a infecção neonatal pelo CMV foi o agente causal em dois casos. O diagnóstico da hepatite neonatal pelo CMV é importante porque esta infecção pode mimetizar outras patologias que cursam com icterícia colestatia no primeiro ano de vida.

Alterações neurológicas foram observadas em 8 crianças. Quatro delas, uma recém-nascida e três lactentes,

apresentaram crises convulsivas, sendo que uma destas tinha alterações líquóricas compatíveis com meningite viral, outra com microcefalia e a terceira apresentava exame radiológico com calcificações parenquimatosas bilaterais. Macrocefalia foi observada em uma criança aos 12 meses de idade. Outros 3 casos tratavam-se de crianças já na idade pré-escolar e que estavam sendo acompanhadas para investigação de retardo do desenvolvimento neuro-motor. Estas manifestações clínicas sugerem que estas crianças foram infectadas no período intra-uterino. O envolvimento do sistema nervoso central na infecção congênita pelo CMV pode manifestar-se por crises convulsivas, sinais neurológicos focais, encefalite resultando em microcefalia com ou sem calcificações intracranianas, surdez neurosensorial e evolução com graus variáveis de disfunção neurológica, desde incoordenação motora mínima até déficit significativo e incapacitante do desenvolvimento neuro-motor.<sup>12,13</sup> Outros autores relatam casos de crianças com infecção congênita pelo CMV evoluindo com microcefalia, surdez e comprometimento severo do desenvolvimento neuromotor e que aos 4 anos ainda apresentavam virúria e anticorpos IgM específicos para CMV.<sup>6</sup>

Ainda dentre o grupo de crianças com alterações neurológicas, observou-se um caso de polirradiculoneurite, que pode ser uma das manifestações de infecção adquirida pelo CMV. Tratava-se de uma paciente com 4 anos, do sexo feminino, apresentando dor em membros inferiores há 10 dias e dificuldade de deambulação. Ao exame mostrava alteração de marcha, parestesia e paresia em membros inferiores, com diminuição da força muscular e hiporreflexia profunda. Ao exame líquórico observou-se dissociação proteíno-citológica (ausência de células e 153 mg/dl de proteínas). A paciente teve o diagnóstico de neuropatia desmielinizante adquirida e evoluiu bem, com recuperação do déficit motor, mantendo apenas discreta hiporreflexia em membros inferiores após 2 meses de evolução. Klemola et

al<sup>14</sup>, estudando 70 pacientes com alterações neurológicas, diagnosticou a síndrome de Guillain-Barré em 8 casos, relacionando 2 destes à citomegalovirose.

Quatro crianças tiveram síndrome da mononucleose infecciosa. Nestes casos, observou-se febre por mais de uma semana, adenopatia cervical e/ou generalizada, hepatoesplenomegalia e exsudato amigdaliano. Seu hemograma mostrava 36.800 leucócitos/mm<sup>3</sup>, com 91% de linfócitos, sendo numerosos atípicos. A pesquisa de anticorpos heterófilos Paul-Bunnell-Davidson foi negativa, bem como o teste de imunofluorescência para toxoplasmose. Evoluiu com desaparecimento dos sintomas após 1 mês, mantendo apenas discreta hepatoesplenomegalia. A síndrome de mononucleose infecciosa pode ser uma das manifestações mais comuns da infecção adquirida pelo CMV. Pannuti et al<sup>15</sup>, estudando 82 crianças com doença "mononucleose símile" (apresentavam reação de Paul-Bunnell-Davidson negativa), diagnosticaram 5 casos (6%) de infecção aguda pelo CMV. Em outro estudo, os mesmos autores mostraram que a linfadenopatia cervical, hepatoesplenomegalia e a presença de exsudato em amígdalas eram mais comuns nas crianças que nos adultos<sup>16</sup>.

Sintomas de acometimento pulmonar como tosse, dificuldade respiratória e febre, foram observados em duas crianças. Uma delas, aos 3 meses de idade, foi internada com diagnóstico inicial de bronquiolite ou pneumonite intersticial. Apresentava ao exame radiológico do tórax, velamento intersticial com atelectasia no ápice pulmonar direito. Nesta ocasião, afastaram-se as hipóteses diagnósticas de mucoviscidose e refluxo gastro-esofágico. A paciente manteve-se sintomática por 10 meses. Neste caso, o aparecimento dos sintomas entre 2 e 4 meses de idade, sugere que a infecção pelo CMV tenha sido perinatal. O acometimento pulmonar na infecção perinatal pelo CMV costuma manifestar-se após período de incubação de 1 a 4 meses, caracterizando-se por dificuldade respiratória com evidências de obstrução difusa de vias aéreas inferiores e sinais radiológicos de edema e secreção com velamentos irregulares no parênquima pulmonar. Taquipnéia, tosse persistente, retrações intercostais, coriza e congestão nasal com febre baixa são achados comuns, semelhantes àqueles causados por outros microrganismos, como os adenovírus, o *Mycoplasma pneumoniae*, a *Bordetella pertussis* e o vírus sincicial respiratório, podendo inclusive coexistir com os mesmos<sup>17,18</sup>.

Púrpura plaquetopênica foi observada em uma criança, com 3 meses de idade, apresentando febre há 6 dias. Ao exame constatou-se hepatoesplenomegalia, petéquias e plaquetopenia (20.000/mm<sup>3</sup>). O mielograma mostrou-se normal e as sorologias para rubéola e toxoplasmose, negativas. O caso evoluiu bem, com desaparecimento dos sintomas em 2 meses. Estas alterações hematológicas são descritas na infecção pelo CMV e atribuídas à ação direta do CMV na medula óssea<sup>19,20</sup>.

Uma paciente com 5 anos, apresentava cegueira congênita. Neste caso, a ultra-sonografia ocular mostrou microftalmia bilateral, opacificação de córnea, espessamento de

retina, fibrose e atrofia do nervo óptico. Radiografias de crânio foram normais e sorologias para toxoplasmose, rubéola e lues negativas. Estas alterações oculares são sugestivas de infecção congênita pelo CMV, contribuindo para a morbidade desta doença<sup>21</sup>.

As síndromes clínicas aqui descritas são freqüentemente encontradas na prática médica e costumam ser pouco diagnosticadas, em parte pelas dificuldades na confirmação por exames complementares, devido à pouca disponibilidade de laboratórios que façam o diagnóstico de citomegalovirose. O laboratório se faz importante na rotina diagnóstica destes casos, uma vez que infecções por CMV podem mimetizar várias patologias. O diagnóstico destas infecções permite ao clínico a tomada de algumas medidas, tais como: evitar terapia antimicrobiana abusiva em casos de febre prolongada, detectar gestantes susceptíveis e população infantil de risco para anormalidades tardias por CMV e tratar, em casos selecionados, citomegaloviroses com drogas antivirais específicas.

#### Referências bibliográficas

1. Stern H. Isolation of cytomegalovirus and clinical manifestations of infection at different ages. *Brit Med J*, 1968; 1:665-69.
2. Alford CA, Britt WJ. Cytomegalovirus. In: Fields N, Knipe D.W, (eds): *Virology*, 2nd ed. Raven Press, NY, 1990; 1981-2005.
3. Chou S. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis*, 1990; 12:727-35.
4. Reynolds DW, Stagno S, Alford CA, et al. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In: Lennette EH, Schmidt NJ, eds. *Diagnostic procedures for viral, Rickettsial and Chlamydial infections*, 3rd ed. American Public Health, NY, 1979; 399-439.
5. Alford CA, Stagno S, Pass RF. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis*, 1990; 12:745-51.
6. Melish ME, Hanshaw JB. Congenital cytomegalovirus infection. Developmental progress of infants detected by routine screening. *Am J Dis Child*, 1973; 126:190-4.
7. Stagno S. Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1990; 241-81.
8. Stagno S, Pass RF. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Seminars in Perinatology*, 1983; 7:31-42.
9. Fang F, Dong YS. Effects of cytomegalovirus hepatitis on growth, development and nervous system of infants. *Chin Med J*, 1991; 104:138-41.
10. McCracken GH, Shinefield HR, Cobb K, et al. Congenital cytomegalic inclusion disease. A longitudinal study of 20 patients. *Amer J Dis Child*, 1969; 117:522-39.
11. Giacchino R, Navone C, Ciravegna B, et al. Liver cirrhosis. *Pediatr Med Chir*, 1990; 12:147-52.
12. Pass RF, Stagno S, Meyers GJ, et al. Outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of long term longitudinal follow up. *Pediatrics* 1980; 66:758-62.
13. Volpe JJ. Viral, protozoa and related intracranial infections. In: Volpe JJ, ed. *Neurology of the newborn*, Philadelphia, W.B. Saunders, 1987; 548-56.



14. Klemola E, Weckman N, Haltia K, et al. The Guillain-Barré syndrome associated with acquired cytomegalovirus infection. *Acta Med Scand*, 1967; 181:603-7.
15. Pannuti CS, Vilas-Boas LS, Angelo MJO, et al. Síndrome "mononucleose-símile" na infância. Incidência da infecção por citomegalovírus diagnosticada através da detecção imunoenzimática de anticorpos IgM. *Rev Inst Med Trop, São Paulo*, 1983; 25:300-4.
16. Pannuti CS, Stewien KE, Carvalho RPS, et al. Cytomegalovirus mononucleosis in children and adults: differences in clinical presentation. *Scand J Infect Dis*, 1985; 17:153-6.
17. Stagno S, Brasfield DM, Brown MB, et al. Infant pneumonitis associated with cytomegalovirus, chlamydia, pneumocystis and ureaplasma: prospective study. *Pediatrics*, 1981; 68:322-29.
18. Whitley RJ, Brasfield D, Reynolds DW, et al. Protracted pneumonitis in young infants associated with perinatally acquired cytomegaloviral infection. *J Pediatrics*. 1976; 89:11-6.
19. Osborn JE, Shahidi NT. Thrombocytopenia in murine cytomegalovirus infection. *J Lab Clin Med*. 1973; 81:53-63.
20. Sahud MA, Bachelor MM. Cytomegalovirus-induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med*. 1978; 138:1573-75.
21. Stagno S, Reynolds DW, Amos CS, et al. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and toxoplasma infections. *Pediatrics*, 1977; 59:669-78.

Endereço para correspondência:

Dra. Aparecida Yulie Yamamoto  
Unidade de Pesquisa em Virologia  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Campus da USP  
CEP 14049-900 - Ribeirão Preto, SP, Brasil.  
FAX (016) 633-1586.