



ARTIGO ORIGINAL

Prevalência e aspectos clínicos da infecção congênita por citomegalovírus

Prevalence and clinical aspects of congenital cytomegalovirus infection

Aparecida Y. Yamamoto¹, Luiz T. M. Figueiredo², Marisa M. Mussi-Pinhata³

Resumo

Objetivos: Determinar a prevalência da infecção congênita por citomegalovírus (CMV), bem como avaliar o papel desse agente como causa de doença congênita e descrever as principais manifestações clínicas dessa doença em crianças atendidas em hospital universitário de Ribeirão Preto.

Casuística e métodos: Para determinação da prevalência da infecção congênita, foram estudados 189 recém-nascidos e suas mães, constituindo um primeiro grupo de estudo. Para avaliação da importância do CMV na etiologia da doença congênita e descrição das manifestações clínicas da citomegalovirose congênita, foram incluídos outros 130 recém-nascidos e 74 lactentes com clínica sugestiva de infecção congênita, constituindo um segundo grupo. O diagnóstico laboratorial foi realizado pelo isolamento viral na urina em cultura de fibroblastos humanos, pela detecção do DNA viral na urina através da reação de amplificação gênica catalizada pela polimerase e pela reação de imunofluorescência para pesquisa de IgM e IgG específicos anti-CMV.

Resultados: A prevalência da infecção congênita foi de 2,6%, e 95% das mães tinham IgG anti-CMV. Todas as crianças infectadas do primeiro grupo eram assintomáticas ao nascimento, porém em uma evidenciaram-se calcificações intracranianas ao exame radiológico. No segundo grupo de estudo, CMV foi detectado na urina de 12 (5,9%) das crianças com apresentação clínica compatível com doença congênita. Destas, em 10 (83%), o diagnóstico foi realizado após o período neonatal. Os achados clínicos incluíram a hepatoesplenomegalia (75%), icterícia neonatal com hiperbilirrubinemia direta (42%) e anormalidades neurológicas caracterizadas por microcefalia e calcificações intracranianas (42%).

Conclusões: Observou-se uma prevalência de infecção congênita por CMV similar à encontrada nos estudos realizados em populações de soroprevalência elevada para CMV. Crianças com citomegalovirose assintomática podem ter acometimento do SNC, clinicamente imperceptível ao nascimento, e crianças sintomáticas apresentam doença multissistêmica. O diagnóstico diferencial de qualquer recém-nascido com anormalidades, incluindo envolvimento hepático, hematopoético e neurológico, deve incluir pesquisa para citomegalovirose congênita. Os CMV mostraram ser agentes importantes na etiologia dessas afecções, e a grande maioria das crianças sintomáticas foram identificadas após o período neonatal, dificultando um diagnóstico definitivo.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(1):23-28: infecção por citomegalovírus, infecção congênita por citomegalovírus, citomegalovirose congênita.

Abstract

Objectives: The objectives of the present study were to determine the prevalence of congenital CMV infection, as well as to evaluate the importance of this agent as cause of congenital disease, and to describe the clinical manifestations in children attended at a General Hospital in Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Population and methods: A first group including 189 newborns and their mothers was evaluated for the prevalence of the congenital CMV infection. A second group including 130 newborns and 74 infants who presented clinical manifestations of congenital disease were also investigated to evaluate the importance of the CMV as a cause of this disease and to describe the clinical findings. Diagnosis of congenital CMV infection was established by detecting the virus using viral isolation in tissue culture, polymerase chain reaction DNA amplification in urine samples and detection of specific anti-CMV IgM and IgG by immunofluorescence indirect test.

Results: The prevalence of congenital CMV infection was 2.6% and the prevalence of CMV antibodies in mothers was 95%. In the first group, none of the 5 congenitally infected presented clinical apparent disease at birth, although one of them had intracranial calcifications. In the second group, CMV was recognized as a causative of congenital disease in 12 children (5.9%). Of these, 10(83%) were identified after the neonatal period. The clinical findings included hepatosplenomegaly (75%), jaundice with direct hyperbilirubinemia (42%), neurologic disease consisting of microcephaly and intracranial calcifications in 42% of these children.

Conclusions: The prevalence of congenital CMV infection was similar to that reported in other studies about highly immune populations. Infants with asymptomatic congenital CMV infection may have diseases of the central nervous system that are not clinically evident at birth, such as punctate calcifications. CMV infected patients who are symptomatic at birth have a multisystem disease, and the differential diagnosis of any newborn with clinical abnormalities including involvement of the hepatobiliary, hematopoietic and central nervous systems should include congenital CMV infection. CMV was an important agent of these abnormalities, and the majority of symptomatic patients were identified after the neonatal period, making the diagnosis more difficult.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(1):23-28: cytomegalovirus infections, congenital cytomegalovirus infection, congenital cytomegalovirus disease.

1. Médica Assistente do Depto. de Puericultura e Pediatria do Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Doutora em Pediatria pela FMRP-USP.

2. Médico Virologista. Doutor em Clínica Médica e Professor Associado do Depto. de Clínica Médica da FMRP-USP.

3. Professora Doutora do Depto. de Puericultura e Pediatria da FMRP-USP.

Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo. Unidade Multidisciplinar de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo.

Trabalho financiado pelo CNPq e FAPESP.

Introdução

Os citomegalovírus (CMV) são reconhecidos atualmente como os agentes mais comuns de infecção congênita no homem, com prevalência de 0,2 a 3 % de todos os nascimentos, sendo maior em populações em que a soropositividade materna é elevada¹⁻⁴. No Brasil, existe um único estudo avaliando essa prevalência, realizado no município de São Paulo⁵.

Apesar de a grande maioria das infecções congênitas por CMV serem assintomáticas ao nascimento, cerca de 10% das crianças infectadas apresentam sintomas; destas, 20 a 30% apresentam quadros graves, necessitando de cuidados intensivos no período neonatal¹. Cerca de 90% das crianças sobreviventes de citomegalovirose congênita sintomática e 10 a 25% das assintomáticas desenvolvem seqüelas significativas, geralmente nos primeiros 2 anos de vida, que incluem retardo do desenvolvimento neuropsicomotor, crises convulsivas, déficit auditivo uni ou bilateral e comprometimento ocular decorrente de coriorretinite⁶⁻⁸. O reconhecimento precoce de crianças com infecção congênita sintomática permite intervenção terapêutica nos casos graves, pois existem evidências atuais dos benefícios da administração de drogas antivirais em crianças com envolvimento multissistêmico, particularmente do SNC^{9,10}. Por outro lado, a detecção das crianças assintomáticas pode definir crianças de risco para desenvolvimento de seqüelas futuras, uma vez que o comprometimento auditivo e/ou neurológico podem não ser identificados ao nascimento⁶.

Tendo em vista a importância da citomegalovirose congênita como problema de saúde pública, pela possibilidade de interferência no desenvolvimento infantil, foram objetivos deste estudo: determinar a prevalência da infecção congênita por CMV, avaliar o papel desse agente como causa de doença congênita em crianças com apresentação clínica compatível e descrever as manifestações clínicas dessa doença observadas em crianças atendidas em um hospital universitário de Ribeirão Preto.

Casuística e métodos

Foram incluídos neste estudo 319 recém-nascidos e 74 lactentes atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). Trata-se de um hospital universitário que atende a população de nível socioeconômico baixo de Ribeirão Preto e região (SP), onde ocorrem cerca de 2500 partos anuais. O período de estudo foi março de 1994 a outubro de 1996. O estudo foi aprovado pela Comissão de Normas Éticas do HCFMRP-USP.

Inicialmente, objetivando determinar a prevalência da infecção congênita por CMV, foram estudados 189 recém-nascidos e suas mães, os quais compuseram um primeiro grupo de estudo. Foram incluídos recém-nascidos de qualquer idade gestacional, nascidos consecutivamente a partir do início do estudo e cujas mães concorda-

ram em participar do estudo. Todos esses neonatos foram submetidos à avaliação clínica no berçário, e amostras de urina e sangue foram obtidas entre o nascimento e a primeira semana de vida. Também, no pós-parto imediato, foram colhidas amostras do sangue de todas as mães. Os recém-nascidos que apresentaram virúria na amostra colhida ao nascimento foram convocados para coleta de nova amostra urinária, com 15 dias de vida. Assim, diagnosticou-se citomegalovirose congênita nos recém-nascidos que apresentaram virúria em duas amostras obtidas nas primeiras 3 semanas de vida^{1,6,11}. As crianças que tiveram esse diagnóstico confirmado foram reavaliadas para detecção de sinais e sintomas clínicos sugestivos de infecção congênita, bem como planejou-se avaliação oftalmológica, audiometria e exame radiológico de crânio.

Para avaliação da importância do CMV como causa de doença congênita e para descrição das manifestações clínicas observadas nas crianças com citomegalovirose congênita, participaram outros 130 recém-nascidos e 74 lactentes (1 a 7 meses de idade), compondo um segundo grupo de estudo. Essas crianças foram triadas pela equipe pediátrica do Serviço de Pediatria do HCFMRP-USP, por apresentarem manifestações clínicas compatíveis com infecção congênita, incluindo as seguintes alterações: recém-nascido pequeno para idade gestacional (PIG), petéquias, plaquetopenia ($\leq 75.000/\text{mm}^3$), hepatoesplenomegalia, icterícia ao nascimento, microcefalia, calcificações intracranianas, deficiência auditiva, anormalidades neurológicas inexplicáveis, hiperbilirrubinemia direta ($\geq 3 \text{ mg/dl}$) e alanina aminotransferase aumentada ($>100 \text{ U/l}$)¹². Amostras de urina e sangue foram colhidas na ocasião da suspeita clínica. Confirmou-se o diagnóstico de doença congênita por CMV nos casos em que a virúria foi detectada nas 3 primeiras semanas de vida acrescida de uma ou mais manifestações clínicas sugestivas de infecção congênita e excluídas outras etiologias causadoras dessas anormalidades, como toxoplasmose, sífilis e rubéola¹². Nos pacientes em que a detecção de virúria foi possível apenas após a terceira semana de vida por ausência de amostra anterior e essa virúria acompanhava-se de manifestações clínicas sugestivas, excluído outras etiologias, diagnosticou-se provável citomegalovirose congênita¹².

Métodos laboratoriais utilizados

Buscou-se detectar a presença de CMV nas amostras de urina por isolamento viral através da inoculação em cultura de fibroblastos humanos com identificação viral por imunofluorescência usando anticorpo monoclonal específico para CMV (Baxter, EUA)^{13,14}. Também detectou-se virúria utilizando a reação de amplificação gênica em cadeia, catalisada pela polimerase (PCR) com primers MIE, gB e gH, que amplificam regiões do genoma do CMV, respectivamente, codificadora do principal antígeno precoce imediato de CMV e das glicoproteínas B e H

presentes no envelope viral¹⁵⁻¹⁷. Ainda, fez-se teste de imunofluorescência indireta visando a detecção de IgM e IgG anti-CMV nas amostras de sangue¹³.

Cálculo do tamanho amostral

O cálculo do tamanho amostral do primeiro grupo baseou-se na prevalência de infecção congênita em estudo preliminar com 65 recém-nascidos dessa mesma população. Considerando-se que essa prevalência foi de 3,1% (2/65), desejando-se que a precisão da estimativa dessa prevalência seja de 2%, aceitando-se um erro alfa de 5% e intervalo de confiança de 95%, obteve-se um n=167. Utilizou-se neste cálculo o programa EPI INFO 6.0.

Resultados

No primeiro grupo de estudo, dentre os 189 recém-nascidos participantes, 174 (92%) não apresentavam manifestações clínicas sugestivas de infecção congênita ao nascimento, e 15 (8%) tinham alterações ao exame sendo mais freqüente a esplenomegalia. Possuíam uma média de peso ao nascimento de 3054 ± 525 gramas, e 86,2% tinham idade gestacional maior que 37 semanas. Diagnosticou-se infecção congênita por CMV em 5 dessas crianças, e, portanto, a prevalência da infecção congênita foi de 2,6% (intervalo de confiança de 95% = 0,98 a 6,4%). Dentre essas 5 crianças infectadas, apenas 2 (40%) apresentavam IgM sérico anti-CMV. Todas eram assintomáticas ao nascimento e evoluíram com bom ganho ponderal, bem como com desenvolvimento neurológico adequado, durante um período de seguimento de 6 meses. Em um caso, o exame radiológico de crânio evidenciou calcificações intracranianas. Avaliação oftalmológica foi realizada em

4 crianças que apresentaram fundo de olho normal. Também, audiometria efetuada em 3 casos não detectou alterações.

Dentre as 189 mães que participaram do primeiro grupo de estudo, observam-se anticorpos IgG anti-CMV em 95%. Apesar de as mães das 5 crianças infectadas apresentarem IgG específica, em nenhuma foi detectada IgM anti-CMV na ocasião do parto. Entretanto, duas dessas mães referiram febre, de causa inexplicada, por mais de 2 semanas, entre o segundo e o terceiro trimestre de gestação, o que poderia significar uma primeira infecção ou recorrência de citomegalovirose naquela ocasião.

No segundo grupo, 12 das 204 (5,9%) crianças com apresentação clínica compatível com infecção congênita tinham virúria na ocasião da suspeita clínica, sendo que em 2 a virúria foi detectada nas primeiras 3 semanas de vida e, em 10, após a quarta semana (1 a 7 meses de idade). A doença citomegálica clássica caracterizada pela apresentação conjunta de hepatoesplenomegalia, petéquias, plaquetopenia e microcefalia associado a calcificações intra-cranianas foi observada em apenas duas crianças do segundo grupo. As principais características dos 2 casos de doença congênita confirmada e dos 10 casos de provável doença congênita por CMV estão apresentados na Tabela 1. Alterações neurológicas observadas foram calcificações intracranianas e microcefalia (casos 2, 11 e 12), macrocefalia com retardo do desenvolvimento neuropsicomotor (caso 6) e hipotonia com dificuldade de sucção (caso 10). Alterações pulmonares foram caracterizadas por pneumonite intersticial bilateral nas crianças 8 e 9. Cardiopatias congênitas foram observadas em duas crianças, sendo na forma de comunicação interatrial no caso 7 e comunicação interventricular ampla com dilatação da

Tabela 1 - Principais achados clínicos em 12 pacientes apresentando virúria e manifestações clínicas sugestivas de doença congênita por CMV

| Paciente | Peso nasc. | Sexo | Idade do diagnóstico | Premat. e/ou PIG | Colestase neonatal | Hepatoesplenomegalia | Petéquias plaquetop. | Alteração do SNC | Alteração pulmonar | Alteração cardíaca |
|----------|------------|------|----------------------|------------------|--------------------|----------------------|----------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 3030 | Fem | 2 meses | - | + | + | - | - | - | - |
| 2 | 2400 | Fem | 28 dias | - | + | + | + | + | - | - |
| 3 | 2580 | Masc | 2 meses | - | + | + | - | - | - | - |
| 4 | 3000 | Masc | 2 meses | - | + | + | - | - | - | - |
| 5 | 3210 | Masc | 5 meses | - | + | + | - | - | - | - |
| 6 | 3800 | Fem | 4 meses | - | - | + | - | + | - | - |
| 7 | 3100 | Masc | 53 dias | - | - | + | - | - | - | + |
| 8 | 1050 | Masc | 08 dias | + | - | - | - | - | + | - |
| 9 | 1130 | Masc | 25 dias | + | - | + | - | - | + | + |
| 10 | 3520 | Fem | 3 meses | - | - | - | - | + | - | - |
| 11 | 2550 | Masc | 7 meses | - | - | - | - | + | - | - |
| 12 | 1870 | Fem | 08 dias | + | - | + | + | + | - | - |

Nasc= nascimento Plaquetop= plaquetopenia Premat= prematuridade PIG= pequeno para a idade gestacional.

artéria pulmonar no caso 5. Porém, a associação CMV e cardiopatia congênita pode ser apenas casual não refletindo uma relação causa-efeito. A Tabela 2 mostra a frequência com que ocorreram os diferentes tipos de manifestações clínicas, e a Figura 1 mostra aspectos radiológicos evidenciando calcificações intracranianas em um caso de doença congênita clássica por CMV (caso 2).

Tabela 2 - Frequência dos diferentes tipos de acometimento clínico observados nas 12 crianças com virúria e manifestações clínicas sugestivas de citomegalovirose congênita

| Manifestações clínicas | Nº de casos |
|------------------------------|-------------|
| Hepatoesplenomegalia | 9/12 |
| Colestase neonatal | 5/12 |
| Prematuridade | 3/12 |
| Petéquias / plaquetopenia | 2/12 |
| SNC (calcificações e outros) | 5/12 |
| Coriorretinite | 1/12 |
| Pneumonite | 2/12 |

Discussão

A prevalência da infecção congênita por CMV em nosso estudo foi de 2,6%, e a soropositividade materna de 95%. Essa frequência de infecção congênita foi considerada elevada e similar às taxas de prevalência observadas em outros estudos realizados em populações em que a grande maioria das mulheres são soropositivas para CMV. Um estudo realizado em 6 diferentes regiões do mundo, incluindo 43.000 recém-nascidos e mães com soropositividade de 80 a 100%, mostrou taxas de prevalência de infecção congênita por CMV de 1,2 a 2,2%⁴. No Brasil, Pannuti e cols.⁵ detectaram 5 casos de infecção congênita

em 508 recém-nascidos (prevalência de 0,98%), em uma população de classe socioeconômica baixa do município de São Paulo, cuja soropositividade materna para CMV era de 85%. Outro estudo, realizado nos Estados Unidos, envolvendo uma população com alta ocorrência de infecção por CMV, mostrou uma prevalência de citomegalovirose congênita de 3,4% em filhos de mães sabidamente soropositivas para CMV, semelhante à da frequência encontrada na população geral, previamente conhecida como 2,2%¹⁸. Este estudo sugere que a recorrência da infecção materna tem uma contribuição importante na transmissão vertical da citomegalovirose em populações em que a soroprevalência materna é elevada, como é a nossa população.

Ainda no primeiro grupo de estudo, as 5 crianças com citomegalovirose congênita eram totalmente assintomáticas ao nascimento, porém, uma delas apresentava calcificações intracranianas. Apesar de a casuística ser pequena, este caso mostra a importância do diagnóstico da citomegalovirose congênita assintomática. Sabe-se que 10 a 25% dos casos congênitos assintomáticos poderão ter seqüelas tardias como surdez e alterações neurológicas. Williamson et al.¹⁹ estudaram 28 crianças com infecção congênita assintomática por CMV; observaram 4 casos de deficiência auditiva moderada a grave e outros 4 que apresentavam áreas de hipodensidade na tomografia computadorizada de crânio, tendo esses pacientes evoluído com retardo do desenvolvimento neuropsicomotor. Estima-se que, dentro dos primeiros 2 anos de vida, 2 a 7% das crianças com infecção assintomática por CMV desenvolverão microcefalia com graus variados de retardo neuropsicomotor²⁰.

Os citomegalovírus foram detectados na urina de 12 (5,9%) das crianças que tinham apresentação clínica compatível com infecção congênita, confirmando-se a importância desses agentes como causadores dessas afecções e ressaltando a necessidade de testes laboratoriais para a identificação precoce das crianças infectadas. Observamos que a maioria dos casos foram diagnosticados após o período neonatal. Embora seja possível que algumas dessas crianças tenham se infectado no período perinatal, esses pacientes apresentavam alterações desde o nascimento, constatado na história clínica. Porém, a investigação para CMV foi realizada meses após o nascimento, o que tornou difícil um diagnóstico definitivo.

Analisando os aspectos clínicos e laboratoriais observados nas 12 crianças desse grupo, observamos que hepatoesplenomegalia e icterícia neonatal com hiperbilirrubinemia direta foram as manifestações mais frequentes, seguidas de alterações neurológicas, prematuridade, pneumonite intersticial e coriorretinite. Dentre as alterações neurológicas, foram mais comuns a microcefalia associada a calcificações intracranianas e o retardo do desenvolvimento neuropsicomotor. Esses achados são similares aos observados em outros estudos clínicos sobre doença congênita por CMV, que mostram como anormalidades mais comumente encontradas a hepatoesplenomegalia

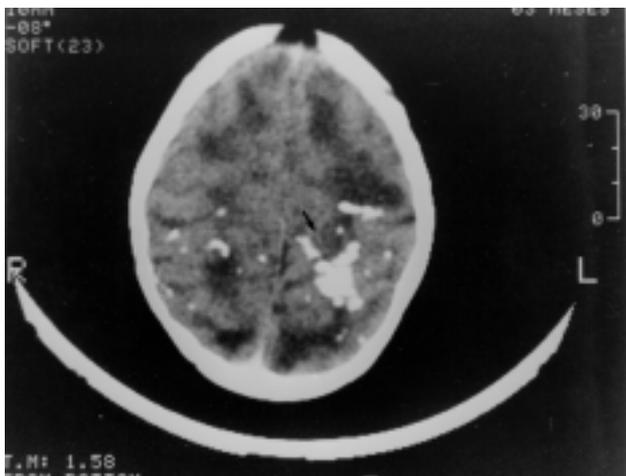


Figura 1 - Tomografia computadorizada de crânio da paciente 2 mostrando áreas extensas de calcificações irregulares e grosseiras.

com ou sem colestase neonatal e a presença de petéquias, geralmente presentes em cerca de 75% dos pacientes. As alterações neurológicas como microcefalia e calcificações intracranianas são encontrados em 53%, a prematuridade em 30% e a coriorretinite em 10% das crianças sintomáticas^{6,21,22}. As manifestações não neurológicas geralmente evoluem para resolução sem danos permanentes¹². Por outro lado, a gravidade da injúria no período pré-natal é determinada pelo envolvimento do SNC, quando a doença congênita por CMV evolui na vasta maioria dos casos com seqüelas permanentes. As manifestações neurológicas relacionadas à citomegalovirose incluem dificuldade de sucção, hipertonia, hipotonia, microcefalia, calcificações intracranianas, crises convulsivas e retardo do desenvolvimento neuropsicomotor. A detecção dessas anormalidades é importante para definição do prognóstico e tratamento²³. Um estudo multicêntrico, fase II, realizado nos Estados Unidos, publicado em 1997, mostrou alguns benefícios do uso do ganciclovir em recém-nascidos com infecção congênita por CMV e envolvimento do SNC¹⁰.

Freqüentemente o pediatra detecta crianças com atraso do desenvolvimento neuropsicomotor durante o acompanhamento de puericultura. Uma grande parcela desses pacientes pode ter tido acometimento infeccioso intra-uterino, cujos sinais clínicos não foram detectados ao nascimento. O conhecimento da história natural da doença congênita por CMV é essencial para suspeita clínica e investigação laboratorial, uma vez que os pacientes sintomáticos apresentam doença multissistêmica com morbidade e mortalidade significativa. Sendo a grande maioria das infecções congênitas por CMV assintomáticas, ou quando sintomáticas, caracterizadas por sinais e sintomas variados e inespecíficos, muitas vezes, o diagnóstico de citomegalovirose é subestimado.

Apesar da casuística deste trabalho ser pequena, cerca de 60 crianças por ano podem nascer infectadas pelo CMV no hospital onde foi realizado o estudo, considerando que a prevalência de infecção congênita foi de 2,6% e nascem anualmente 2500 crianças. A realização de uma triagem neonatal para detecção de todos os casos de infecção congênita pelo CMV é tema controverso na literatura, porém apoiada por alguns autores^{24,25}. Para tanto, seria necessário estabelecer um método laboratorial que apresentasse vantagens operacionais para utilização em larga escala. A PCR com detecção do vírus na urina, utilizada neste estudo, oferece algumas dessas vantagens como rapidez, praticidade, sensibilidade e especificidade adequada comparada com o isolamento viral em cultura de fibroblastos humanos, considerado método padrão para diagnóstico da infecção congênita por CMV^{15,26}. O custo para realização de um teste pela PCR, método utilizado de rotina no local deste estudo, seria em torno de 13 dólares, totalizando gastos com material para coleta da amostra, reagentes e recursos humanos para realização do teste. Assim, considerando a prevalência de infecção congênita

por CMV e o número de crianças que nascem neste hospital, o custo por caso identificado seria em torno de 500 dólares. Tal custo seria inferior ao valor de 9300 dólares, estimado por caso identificado de hipotireoidismo congênito, considerando uma prevalência desta doença de 1: 6000 nascidos vivos²⁷.

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

Referências bibliográficas:

1. Alford CH, Stagno S, Pass RF, Britt WJ. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 745-53.
2. Melish ME, Hanshaw JB, Rochester NY. Congenital cytomegalovirus infection. *Am J Dis Child* 1973; 126:190-94.
3. Stagno S, Dworsky ME, Torres J, Mesa T, Hirsh T. Prevalence and importance of congenital cytomegalovirus infection in three different populations. *J Pediatr* 1982; 101: 897-900.
4. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, et al. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. *Clin Obstet Gynecol* 1982; 25: 563-576.
5. Pannuti CS, Vilas-Boas LS, Angelo MJO, Carvalho RPS, Segre CM. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in two socioeconomically distinct populations of a developing country. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1985; 27:105-107.
6. Stagno S. Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious Diseases of the fetus newborn infant*. W.B. Saunders Company; 1995. p.312- 45.
7. Pass RF, Stagno S, Myers GJ, Alford CA. Outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of long term longitudinal follow-up. *Pediatrics* 1980; 66:758-62.
8. Williamson WD, Desmond MM, LaFevers N, Taber LH, Catlin FI, Weaver TG. Symptomatic congenital cytomegalovirus. Disorders of language, learning, and hearing. *Am J Dis Child* 1982; 136: 902-905.
9. Nigro G, Scholz H, Bartmann U. Ganciclovir therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants: a two-regimen experience. *J Pediatr* 1994; 124:318-322.
10. Whitley RJ, Cloud G, Gruber W, Storch GA, Demmler GJ, Jacobs RF, et al. Ganciclovir treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of a phase II study. *J Infect Dis* 1997; 175: 1080-1086.
11. Demmler GJ. Congenital cytomegalovirus infections. *Semin Pediatr Infect Dis* 1994; 5: 52-5.
12. Ista AS, Demmler GJ, Dobbins, Stewart JA, National Congenital Cytomegalovirus Disease Registry Collaborating Group. Surveillance for congenital cytomegalovirus disease: a report from the nacional congenital cytomegalovirus disease registry. *Clin Infect Dis* 1995; 20:665-670.

13. Reynolds DW, Stagno S, Alford CA. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections. In: Lennette, EH; Schmidt, NJ eds. *Diagnosis procedures for viral, Rickettsial and Chlamydial infections*. American Public Health Association, 1979. p.399-439.
14. Paya CV, Wold AD, Ilstrup DM, Smith TF. Evaluation of number of shell vial cell cultures per clinical specimen for rapid diagnosis of cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 198- 200.
15. Demmler GJ, Buffone GJ, Schimbor CM, May RA. Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by using Polymerase Chain Reaction DNA Amplification. *J Infect Dis* 1988; 158:1177-1184, 1988.
16. Chou S, Dennison KM. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes. *J Infect Dis* 1991; 163:1229-1234.
17. Chou S. Molecular epidemiology of envelope glycoprotein H of human cytomegalovirus. *J Infect Dis* 1992; 166: 604-607.
18. Stagno S, Reynolds DW, Huang ES, Thames SD, Smith RJ, Alford CA. Congenital cytomegalovirus infection. Occurrence in an immune population. *N Engl J Med* 1977; 296:1254-1258.
19. Williamson WD, Percy AK, Yow MD, Gerson P, Catlin FI, Kopeelman ML, et al. Asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. Audiologic, neuroaudiologic, and neurodevelopmental. Abnormalities during the first year. *Am J Dis Child* 1990; 144: 1365-1368.
20. Starr JG, Bart RD, Gold E. Inapparent congenital cytomegalovirus infection. Clinical and epidemiologic characteristics in early infancy. *N Engl J Med* 1970; 7: 1075-9.
21. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis* 1992; 11: 93-9.
22. Demmler GJ. Congenital cytomegalovirus infection and disease. *Adv Pediatr Infect Dis* 1996; 11:135-53.
23. Boppana SB, Fowler KB, Vaid Y, Hedlund G, Stagno S, et al. Neuroradiographic findings in the newborn period and long-term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1997; 99: 409-14.
24. Balcarek KB, Warren W, Smith RJ, Lyon MD, Pass RF. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection by detection of virus in saliva. *J Infect Dis* 1993; 167:1433-6.
25. Yow MD. Congenital cytomegalovirus disease: a now problem. *J Infect Dis* 1989; 159: 163-7.
26. Yamamoto AY, Aquino VH, Figueiredo LTM, Mussi-Pinhata MM. Diagnóstico de infecção congênita e perinatal por citomegalovírus utilizando a reação em cadeia da polimerase. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1998; 31: 19-26.
27. Layde PM, Von Allmen SD, Oakley GP. Congenital hypothyroidism control programs. A cost-benefit analysis. *JAMA* 1979; 241: 2290-2.

Endereço para correspondência:

Dra. Aparecida Yulie Yamamoto

Depto. de Pediatria - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Av. Bandeirantes, 3900 - Campus da USP

CEP 14049-900 - Ribeirão Preto - São Paulo

Fax: (016) 633-0136