

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CONGÊNITA POR CITOMEGALOVÍRUS E
PERFIL DE CITOCINAS NOS PACIENTES PREMATUROS, PEQUENOS PARA A
IDADE GESTACIONAL OU BAIXO PESO**

Janáina Fortes Lino

Belo Horizonte

2021

Janaína Fortes Lino

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CONGÊNITA POR CITOMEGALOVÍRUS E
PERFIL DE CITOCINAS NOS PACIENTES PREMATUROS, PEQUENOS PARA A
IDADE GESTACIONAL OU BAIXO PESO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli

Co-orientadora: Profa. Lilian Martins Oliveira Diniz

Faculdade de Medicina

2021

L758p Lino, Janaina Fortes.
Prevalência da infecção congênita por Citomegalovírus e perfil de Citocinas nos pacientes prematuros, pequenos para a idade gestacional ou baixo peso [manuscrito]. / Janaina Fortes Lino. -- Belo Horizonte: 2021. 115f.: il.

Orientador (a): Roberta Maia de Castro Romanelli.
Coorientador (a): Lilian Martins Oliveira Diniz.
Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Citomegalovirus. 2. Transmissão Vertical de Doenças Infecciosas. 3. Recém-Nascido de muito Baixo Peso. 4. Recém-Nascido Pequeno para a Idade Gestacional. 5. Recém-Nascido Prematuro. 6. Retardo do Crescimento Fetal. 7. Dissertação Acadêmica. I. Romanelli, Roberta Maia de Castro. II. Diniz, Lilian Martins Oliveira. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NI M: OW 165 5 H3

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA - CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

FOLHA DE APROVAÇÃO

***DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES CONGÊNITAS VIRAIS NOS PACIENTES PREMATUROS, PEQUENOS PARA A IDADE GESTACIONAL OU BAIXO PESO:**

PREVALÊNCIA DE CITOMEGALOVÍRUS E PERFIL DE CITOCINAS

JANAÍNA FORTES LINO

Dissertação de Mestrado defendida no dia 25 de fevereiro de 2021 como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS DA SAÚDE, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde-Saúde da Criança e do Adolescente e aprovada pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do referido Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelas seguintes Professoras Doutoras: Roberta Maia de Castro Romanelli (Orientadora)- UFMG, Gláucia Manzan Queiroz de Andrade - UFMG, Márcia Gomes Penido Machado – UFMG, Lílian Mar2ns Oliveira Diniz (Coorientadora) - UFMG

Belo Horizonte, 25 de fevereiro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por Roberta Maia de Castro Romanelli, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 25/02/2021, às 17:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gláucia Manzan Queiroz de Andrade, Professora Magistério Superior - Voluntária, em 25/02/2021, às 20:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Márcia Gomes Penido Machado, Professora do Magistério Superior, em 25/02/2021, às 21:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Lílian Mar2ns Oliveira Diniz, Membro, em 02/03/2021, às 17:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao=acesso_externo=0, informando o código verificador 0588725 e o código CRC: 98CE81F8.

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitora: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor: Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pro-Reitor de Pos-Graduacao: Prof. Fabio Alves da Silva Junior

Pro-Reitor de Pesquisa: Mario Fernando Montenegro Campos

Faculdade de Medicina

Diretor: Prof. Humberto Jose Alves

Vice-Diretora: Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pos-Graduacao: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Subcoordenadora do Centro de Pos-Graduacao: Profa. Eli Iola Gurgel Andrade

Chefe do Departamento de Pediatria: Profa. Laura Maria de Lima Belizário Facury Lasmar

Vice-Chefe do Departamento de Pediatria: Márcia Gomes Penido Machado

Programa de pós graduação em Ciências da Saúde – Saúde da criança e do adolescente

Coordenadora: Prof.^a Roberta Maia de Castro Romanelli

Subcoordenadora: Prof.^a Débora Marques de Miranda

Membros:

Prof.^a Ana Cristina Simões e Silva – Titular

Prof. Eduardo Araújo de Oliveira – Suplente

Prof.^a Débora Marque de Miranda - Titular

Prof. Leandro Fernandes Malloy Diniz – Suplente

Prof.^a Cláudia Regina Lindgren Alves – titular

Prof.^a Zilma Silveira Nogueira Reis – Suplente

Prof.^a Juliana Gurgel Giannetti - Titular

Prof.^a Ivani Novato Silva – Suplente

Prof.^a Lêni Márcia Anchieta -Titular

Prof.^a Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana – Suplente

Roberta Maia de Castro Romanelli –Titular

Luana Caroline dos Santos – Suplente

Sérgio Veloso Brant Pinheiro –Titular

Cássio da Cunha Ibiapina – Suplente

Laura Rangel Drumond de Menezes (Disc. Titular)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram de forma direta ou indireta para a conclusão desse trabalho:

Em especial à querida Paula Valadares, que não está mais entre nós, mas que um dia me disse: “eu te vejo grande” e suas palavras ecoam até hoje em mim, seguem me incentivando. Que eu consiga um dia, alcançar a sua grandeza e leveza.

À Deus pela oportunidade de poder exercer o meu sonho de ser médica.

Ao meu marido, Filipe por me apoiar incondicionalmente e por estar sempre ao meu lado.

Ao meu filho Lucas, por ser fonte de força e de esperança.

À minha mãe por ter me apoiado sempre, sempre acreditar em mim, desde o início da vida.

À minha orientadora Roberta Romanelli, pela oportunidade, por ter me guiado durante a jornada, por ser fonte de inspiração.

À minha co-orientadora Lilian Diniz, por ter segurado a minha mão durante a jornada e por ter acreditado em mim, mesmo quando eu já não acreditava, por ser fonte de inspiração.

A todos os amigos/amigas da Infectologia Pediátrica (DIP) do HIJPII e HC, por me incentivarem diariamente.

A todos os funcionários do Laboratório de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG, em especial: Dra. Débora Miranda, Daniela Valadão e Nathalia Gualberto.

A todos os colegas da MOV, equipe da neonatologia, NEP, Laboratório. Em especial: Erika Costa, Cássia Silva, Alexandra Faria.

Às amigas do Núcleo de Risco da MOV pela parceria diária: Denizete, Letícia, Lilian, Lorena, Raquel, Sheila, Valéria e Viviane.

A todos os colegas dos Hospitais: Sofia Feldman, Risoleta Tolentino Neves e Hospital das Clínicas pela parceria e apoio.

A todos os alunos da iniciação científica, que possibilitaram a conclusão desse trabalho.

À querida Claudia Cavaleri, por todo o aprendizado, fundamental para completar mais essa etapa em minha vida.

RESUMO

Objetivo - O objetivo desse estudo é determinar a prevalência da infecção congênita por CMV na população de pacientes pequenos para a idade gestacional, ou com baixo peso ao nascimento ou prematuros sem causa definida e comparar com a prevalência da infecção em recém-nascidos sem esses fatores de risco. Ainda, descrever o perfil de citocinas nesses dois grupos e identificar diferenças clínicas e epidemiológicas.

Método – Estudo transversal, multicêntrico, realizado em maternidades de referência, no período de 2016 a 2020. Os pacientes pequenos para a idade gestacional, baixo peso ou prematuros foram incluídos no grupo caso, no grupo controle foram incluídos os recém-nascidos sem sintomas sugestivos de infecção congênita, sem doença associada ou atribuída a possível infecção (congênita). Dentre os pacientes selecionados para o estudo, 75 amostras foram submetidas a Polimerase Chain Reaction (PCR) para CMV e dosagem de citocinas, 39 amostras no grupo caso e 36 no grupo controle. As características clínicas obstétricas, neonatais, o perfil de citocinas e a positividade para CMV em PCR foram comparadas entre os grupos caso e controle e, posteriormente, foram comparadas as características do grupo de pacientes infectados e não infectados pelo CMV. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de todas as instituições envolvidas.

Resultados - Dos 213 recém-nascidos inicialmente selecionados, 118 preencheram critério para o grupo caso e 95 para o grupo controle. Observou-se maior número de consultas, testagens para HIV e Sífilis nas mães do grupo controle. As mães do grupo caso apresentaram maior média de gestações, ultrassonografias durante o pré-natal, testagens para Hepatite C, Rubéola e CMV, o parto vaginal e o sexo feminino foram mais frequentes. Dos pacientes selecionados, foram incluídas 75 amostras para realização de PCR para Citomegalovírus e citocinas. O PCR para CMV foi positivo em 7 casos, com prevalência de 9%. No grupo controle 4 (10%) pacientes foram positivos e no grupo caso 3 (8%), sem significância estatística ($p=0,77$). A dosagem de citocinas não apresentou diferença estatística entre os dois grupos. Quando comparados os pacientes infectados e não infectados, as citocinas IFN α , TNF β e IL-10 apresentaram maior dosagem no grupo de pacientes infectados por Citomegalovírus quando comparado com o grupo de não infectados. Observou-se ainda maior frequência de recém-nascidos do sexo feminino no grupo de pacientes infectados.

Conclusão - Embora o citomegalovírus possa resultar em recém-nascidos prematuros, com baixo peso, ou pequenos para a idade gestacional, a interação entre infecção congênita e esses fatores de risco não está bem estabelecida. Mais estudos são necessários para definir melhor essa relação. Além disso, o perfil de citocinas encontrado sugere que a infecção congênita por CMV pode resultar em alteração na cascata inflamatória, porém, mais estudos são necessários para confirmar e estabelecer a importância das alterações encontradas.

Palavras-chave: Citomegalovírus; Transmissão Vertical de Doenças Infecciosas; Recém-Nascido de muito Baixo Peso; Recém-Nascido Pequeno para a Idade Gestacional; Recém-Nascido Prematuro; Retardo do Crescimento Fetal.

ABSTRACT

Objective - The aim of this study is to determine the prevalence of congenital CMV infection in the population of small for gestational age, low birth weight or preterm patients and compare with the prevalence in patients without this risk factors. Also, describe the cytokine profile found in both groups and identify clinical and epidemiological differences.

Method - Case-control, multicenter study, carried out from 2016 to 2020. Patients with restricted intrauterine growth, low birth weight or premature infants were included in the case group, while patients with adequate weight, born at term, were included in the control group. Among the patients included in the study, 75 patients were selected for CMV Polymerase Chain Reaction (PCR) and cytokine dosage, 39 in the case group and 36 in the control group.

Results - Among the 213 patients with the sample collected, 75 patients were diagnosed with Cytomegalovirus and cytokine dosage, 39 in the case group and 36 in the control group. PCR for CMV was positive in 7 patients, resulting in a prevalence of 9%. In the control group 3 (8%) patients were positive and in the case group 4 (10%), without statistical significance ($p=0.77$). The dosage of cytokines showed no statistical difference between the two groups. The cytokines IFN α , TNF β and IL-10 showed higher dosage in the group of patients infected with Cytomegalovirus when compared to the group of non-infected ones ($p<0.05$).

Conclusion - Although Cytomegalovirus can result in prematurity, IUGR and low birth weight, the interaction between congenital infection and these risk factors is not well established. Further studies are needed to better define this relationship. Furthermore, the cytokine profile found suggests that congenital CMV infection may result in an alteration in the inflammation cascade, however, further studies are needed to confirm and establish the importance of the alterations found.

Key words: Cytomegalovirus; Infectious Disease Transmission, Vertical; Infant, Very Low Birth Weight; Infant, Small for Gestational Age; Infant, Premature; Fetal Growth Retardation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fluxograma de seleção dos pacientes, preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, formulário para a coleta de dados e coleta de amostra para o grupo caso, 2016 a 2020.29
FIGURA 2	Fluxograma de seleção das amostras, preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e formulário para a coleta de dados para o grupo controle, 2016 a 2020.30
FIGURA 3	Eletroforese do padrão, controle positivo e controle negativo utilizados na realização da <i>Polimerase Chain Reaction</i> para o Citomegalovírus.33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIG	Adequado para a idade gestacional
CIUR	Crescimento intrauterino restrito
CMV	Citomegalovírus
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
FNTB	Full-term newborn
GA	Gestacional age
IG	Idade gestacional
IUGR	Intrauterine growth restriction
LBW	Low birth weight
NB	Newborn
NEP	Núcleo de Ensino e Pesquisa
PC	Perímetro cefálico
PCR	Polimerase chain reaction
PIG	Pequeno para a idade gestacional
PNB	Premature newborn
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
RN	Recém-nascido
RNPT	Recém-nascido pretermo
SGA	Small for gestacional age
STROBE	Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VLW	Very low birth weight
VZV	Varicella zoster virus
ZIKV	Zika Vírus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA (Artigo de Revisão) Diagnosis of congenital infections in premature, low-birthweight or newborns with intrauterine growth restriction caused by Cytomegalovirus (CMV), Herpes Simplex Virus (HSV), Parvovirus B19, and Zika Virus: a systematic review	22
3 OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo geral	40
3.2 Objetivos específicos	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1 Artigo Original 1 – Prevalence and cytokines profile in preterm, small for gestational age and low birth weight in newborns with and without congenital cytomegalovirus infection	51
5.2 Artigo Original 2 – Assistência pré-natal de recém-nascidos com baixo peso ao nascimento, pequenos para a idade gestacional ou prematuros: um estudo caso-controle	70
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
APÊNDICE 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo caso	83
APÊNDICE 2: Formulário para a coleta de dados	85
APÊNDICE 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo controle ..	87

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (UFMG)	89
ANEXO 2: Emenda 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (UFMG)	92
ANEXO 3: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (Hospital Sofia Feldman)	98
ANEXO 4: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais)	102
ANEXO 5: Emenda 2 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (UFMG)	105
ANEXO 6: Emenda 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (UFMG)	111

1 INTRODUÇÃO

As infecções congênitas são doenças causadas por agentes infecciosos, transmitidas da mãe para o feto durante a gestação. A transmissão pode ocorrer por via hematogênica através da placenta ou por via ascendente, através do colo uterino. Os principais agentes infecciosos causadores das infecções congênitas ou perinatais são o *Toxoplasma gondii*, o *Treponema pallidum*, o Vírus da Rubéola, *Citomegalovírus* (CMV), *Herpes Simples vírus*, HIV (*Vírus da Imunodeficiência Humana*), *Vírus Varicela-zoster*, *Parvovírus B19*, *Zika Vírus* (ZIKV) e os vírus das hepatites (B e C). Como consequência das infecções congênitas, a gravidez pode evoluir com aborto, parto prematuro ou crescimento intrauterino restrito (CIUR). O recém-nascido infectado pode apresentar quadro semelhante a sepse neonatal, cardiopatia congênita, comprometimento da visão, audição, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, dentre outros, gerando grande impacto na saúde pública mundial¹.

Na maior parte dos casos, o binômio não apresenta sintomas durante a gestação ou no período neonatal, sendo o rastreamento durante o pré-natal importante para identificar e tratar quando indicado. Atualmente, o ministério da saúde orienta triagem universal das gestantes apenas para Toxoplasmose, HIV, Sífilis e Hepatite B. A frequência dessas infecções e a possibilidade de tratamento justificam o rastreamento universal como medida de saúde pública. Segundo o Ministério da Saúde, em 2018, a taxa de incidência de sífilis foi 9/1000 nascidos vivos, a taxa de HIV 2,9/1000, e a taxa de hepatite 0,4/1000. A taxa de toxoplasmose congênita relatada por Dubey et al (2012). foi 0,5-2,3/1000 nascidos vivos no Brasil. A triagem universal para outras infecções congênitas, apesar de desejável, pode gerar grande impacto econômico, sendo muitas vezes, inviável²⁻⁶.

1.1 Citomegalovírus

O CMV apresenta soroprevalência na população de 40-100%, o que resulta em incidência média de infecção congênita de 0,2 a 2,4 % nos diferentes países, sendo mais frequente nas regiões com pior nível socioeconômico. Em torno de 5 a 15% dos recém-nascidos infectados intraútero apresentam comprometimento neurológico ou surdez ao nascimento. O diagnóstico é realizado preferencialmente por PCR (Polimerase Chain Reaction) ou cultura viral, que devem ser realizados na saliva ou urina até 14-21 dias de vida. Estudos mostram que a

prematuridade e o baixo peso ao nascimento são sintomas encontrados em 34 a 50% dos casos de recém-nascidos infectados sintomáticos. O tratamento deve ser iniciado no período neonatal com o objetivo de reduzir as sequelas auditivas⁷⁻⁹.

1.2 Parvovírus B19

Segundo dados europeus, um a 13% das gestantes pode apresentar soroconversão para o Parvovírus B19 durante a gestação e 33 a 51% dos fetos resultantes dessas gestações podem evoluir com infecção congênita. Esses recém-nascidos podem apresentar desde quadros leves com anemia, até quadro graves com CIUR, hidropsia, morte fetal, aborto e alterações do desenvolvimento neurológico. Não há vacina ou tratamento disponível até o momento¹⁰.

1.3 Herpes Simples

O Herpes Simples, acomete um recém-nascido a cada 3200 partos segundo dados americanos, a infecção pode ocorrer intraútero ou no período periparto. Apesar de menos frequente, a infecção congênita resulta em sequelas graves como microcefalia, calcificações intracranianas, hidranencefalia, micro-oftalmia, coriorretinite e atrofia óptica ao nascimento. A infecção perinatal pode acometer apenas pele e mucosas, evoluir com encefalite ou doença sistêmica com acometimento de múltiplos órgãos. O tratamento precoce com Aciclovir resulta em menor mortalidade e melhor desfecho neurológico¹¹.

1.4 Zika vírus

O ZIKV foi descoberto em 2015, e após epidemia no Brasil, ficou evidente a sua associação com a infecção congênita, resultando em quadros neurológicos. Hoje, sabe-se que a infecção congênita pode resultar em microcefalia, alterações oftalmológicas, CIUR e baixo peso ao nascimento. Não há vacina ou tratamento disponível até o momento^{12, 13}.

O prognóstico da infecção congênita é melhor quando o diagnóstico é precoce e as intervenções são iniciadas nos primeiros dias de vida. Nesse contexto, a triagem de pacientes com fator de risco possibilitaria o direcionamento de recursos para os pacientes com maior probabilidade de apresentar a infecção. Sabe-se que os fetos com infecção congênita por CMV, Parvovírus B19, Herpes Simples e Zika Vírus podem evoluir com CIUR, baixo peso ao nascimento (BP) ou parto prematuro, no entanto, a frequência dessas infecções nesses pacientes ainda é desconhecida. São necessários estudos para avaliar a importância das infecções congênitas nesses pacientes com fator de risco^{8-12, 14-18}.

Ao considerar a similaridade das manifestações clínicas e os vários agentes das infecções congênitas, a possibilidade de realizar exame de triagem único que sugira ou descarte a infecção, reduziria custos e evitaria investigações desnecessárias no recém-nascido. Ressalta-se que a associação entre o perfil de citocinas e o diagnóstico de sepse neonatal foi proposta por vários autores¹⁹⁻²⁴, no entanto, há poucos estudos que abordam a alteração no perfil de citocinas em pacientes com infecção congênita.

Chen et al.²⁵, observou o aumento significativo de IL-33 em pacientes recém-nascidos com infecção congênita por CMV, quando comparado com pacientes sem infecção. Klimova et al.²⁶ observou níveis elevados de IL-6 em recém-nascidos prematuros infectados com CMV e/ou Herpes simples congênitos, quando comparado com o grupo controle. Apesar de a associação da dosagem de citocinas com as infecções congênitas parecer promissora, os estudos são escassos. Compreender o papel da cascata inflamatória e das citocinas pode auxiliar no diagnóstico precoce, identificar pacientes com pior prognóstico e indicar a necessidade de busca de novos tratamentos²⁷⁻³⁰.

A necessidade de ampliar estudos para triagem de infecções congênitas, principalmente virais e de definir o perfil de citocinas associado a essas infecções, sua contribuição no diagnóstico e correlações clínicas, justificou a realização desse estudo.

Como proposto pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da UFMG, na resolução 03/2020 de 05 de fevereiro de 2010, a revisão da literatura e os resultados serão apresentados sob a forma de artigo de revisão e artigo original, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. Clin Perinatol. 2015;42(1):77-103, viii.
2. BRASIL. Ministério da saúde, Instituto sírio-Libanês de Ensino e Pesquisa. Protocolos da atenção básica: saúde das mulheres. Brasília: MS, 2016. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/protocolo_saude_mulher.pdf. Acesso em 12/10/18.
3. BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico especial: Sífilis 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Disponível em: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/66888/boletim_sifilis_2019_internet_1.pdf?file=1&type=node&id=66888&force=1 Acesso em 15/01/19.
4. BRASIL. Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Especial: HIV 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Disponível em: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/67064/boletim_hiv_aids_2019.pdf?file=1&type=node&id=67064&force=1 Acesso em 15/01/19.
5. BRASIL. Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Especial: Hepatites 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Disponível em: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/66453/boletim_hepatites_2019_c.pdf?file=1&type=node&id=66453&force=1 Acesso em 15/01/19.
6. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. Parasitology. 2012;139(11):1375-424.
7. Buxmann H, Hamprecht K, Meyer-Wittkopf M, Friese K. Primary Human Cytomegalovirus (HCMV) Infection in Pregnancy. Dtsch Arztebl Int. 2017;114(4):45-52.

8. Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM, Cristina P, Pinto G, Moraes Figueiredo LT, Jorge SM. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(2):188-92.
9. Balcells C, Botet F, Gayete S, Marcos M, Dorronsoro I, de Alba C, et al. Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. *J Perinat Med*. 2016;44(5):485-90.
10. Puccetti C, Contoli M, Bonvicini F, Cervi F, Simonazzi G, Gallinella G, et al. Parvovirus B19 in pregnancy: possible consequences of vertical transmission. *Prenat Diagn*. 2012;32(9):897-902.
11. James SH, Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex virus infection: epidemiology and treatment. *Clin Perinatol*. 2015;42(1):47-59, viii.
12. Platt DJ, Miner JJ. Consequences of congenital Zika virus infection. *Curr Opin Virol*. 2017;27:1-7.
13. França GVA, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, Henriques CMP, Carmo EH, Pedi VD, et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. *The Lancet*. 2016;388(10047):891-7.
14. Álvarez Domínguez E, Figueras Aloy J, Botet Mussons F, Marcos Maeso MA, Pérez Fernández JM. [Screening for cytomegalovirus infection in very low birth weight infants]. *An Pediatr (Barc)*. 2013;79(1):3-9.
15. Panhani S, Heinonen KM. Screening for congenital cytomegalovirus infection among preterm infants born before the 34th gestational week in Finland. *Scand J Infect Dis*. 1994;26(4):375-8.
16. Turner KM, Lee HC, Boppana SB, Carlo WA, Randolph DA. Incidence and impact of CMV infection in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2014;133(3):e609-15.

17. Lorenzoni F, Lunardi S, Liembruno A, Ferri G, Madrigali V, Fiorentini E, et al. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection in preterm and small for gestational age infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(15):1589-93.
18. Espiritu MM, Bailey S, Wachtel EV, Mally PV. Utility of routine urine CMV PCR and total serum IgM testing of small for gestational age infants: a single center review. *J Perinat Med.* 2018;46(1):81-6.
19. Machado JR, Soave DF, da Silva MV, de Menezes LB, Etchebehere RM, Monteiro ML, et al. Neonatal sepsis and inflammatory mediators. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:269681.
20. Boskabadi H, Zakerihamidi M. Evaluate the diagnosis of neonatal sepsis by measuring interleukins: A systematic review. *Pediatr Neonatol.* 2018;59(4):329-38.
21. Kasztelewicz B, Piotrowska E, Tołłoczko J, Borszewska-Kornacka MK, Gregorek H, Dzierżanowska-Fangrat K. Assessment of interleukin-17A, C5a and RANTES for early diagnosis of neonatal sepsis - a preliminary study. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(4):376-82.
22. Ng PC, Li K, Leung TF, Wong RP, Li G, Chui KM, et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin Chem.* 2006;52(6):1181-9.
23. Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997;77(3):F221-7.
24. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(12):1646-59.
25. Chen Y, Qian J. Increased serum levels of IL-33 and soluble ST2 in neonates with human cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 2018;90(8):1383-8.

26. Klimova RR, Malinovskaia VV, Guseva TS, Parshina OV, Getiia EG, Degtiareva MV, et al. [Impact of herpesvirus infections on the level of proinflammatory cytokines in premature neonatal infants]. *Vopr Virusol.* 2011;56(4):23-6.
27. Saigal S, Lunyk O, Larke RP, Chernesky MA. The outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. A longitudinal follow-up study. *Am J Dis Child.* 1982;136(10):896-901.
28. Pass RF, Stagno S, Britt WJ, Alford CA. Specific cell-mediated immunity and the natural history of congenital infection with cytomegalovirus. *J Infect Dis.* 1983;148(6):953-61.
29. Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, Griesser C, Sellers S, Llorente A, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. Congenital CMV Longitudinal Study Group. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19(6):505-10.
30. Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L, Guerra B, et al. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics.* 2006;117(1):e76-83.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Artigo de revisão

Diagnosis of congenital infections in premature, low-birthweight or newborns with intrauterine growth restriction caused by Cytomegalovirus (CMV), Herpes Simplex Virus (HSV), Parvovirus B19, and Zika Virus: a systematic review.

Abstract

Objectives: By reviewing studies including diagnosis of congenital infections in the patients with the following risk factors for: prematurity, low weight at birth or intrauterine growth restriction, the aim of this paper is to identify these infections in specific groups of patients and to enable actions towards a better prognosis for infected newborns in adulthood.

Methods: The characteristics considered for selecting papers were: P-newborns younger than 30 days; V,-low weight at birth, prematurity and IUGR; O - frequency of congenital infections with Cytomegalovirus, Parvovirus B19, Herpes Simplex, and Zika virus. The research was performed using EMBASE, LILACS, SCOPUS and MEDLINE databases.

Results: Eight studies were included, all of which addressed congenital infection with Cytomegalovirus,. Manuscript including Herpes Simplex, Zika virus or Parvovirus B19 did not fulfill the defined criteria. A wide variation in the frequency of congenital infection with CMV (zero to 4.8%) was found, which may be attributed to regional and methodological differences between investigations, leading to difficulties in comparisons and analysis of the data.

Conclusion: Data from the reviewed papers point to a need for additional studies covering various centers and with higher number of newborns to confirm the association of risk factors with the examined congenital infections.

Keywords: Congenital infection; Infectious disease transmission, vertical; Infant, very low birth weight; Infant, small for gestational age; Infant, premature; Fetal growth retardation

Introduction

Congenital infections are diseases transmitted from the mother to the fetus during gestation. Infections can occur via hematogenous through placenta or ascend through the uterus. The main infectious pathogens that cause congenital diseases are *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Rubella virus*, Cytomegalovirus (CMV), *Herpes simplex virus* (HSV), *Human immunodeficiency virus* (HIV), *Varicella zoster virus* (VZV), Parvovirus B19, *Zika virus* (ZIKV), and Hepatitis viruses B and C¹. As a consequence of congenital diseases, the infected newborn can present with clinical features similar to neonatal sepsis, vision and hearing impairment, and delayed neuropsychomotor development, among others, which has a significant impact on public health worldwide. When initiated within the first months of life, diagnosis, treatment, and rehabilitation may result in a better prognosis for these patients.

It is known that fetuses with congenital Cytomegalovirus, Parvovirus B19, Herpes simplex, and ZIKV infections may develop with intrauterine growth restriction (IUGR), low-birthweight (LBW) or premature labor²⁻⁴; however, the real frequency of these infections in patients with these risk characteristics is unknown. IUGR occurs when the fetus does not reach the expected intrauterine growth for the gestational age, remaining below the 10th percentile in the fetal growth chart. After the birth, newborns with IUGR are classified as small for gestational age (SGA)⁵. LBW occurs when the newborn presents with a birth weight < 2.500 g⁶. The World Health Organization defines premature labor as any birth before completing 37 weeks of gestation⁷.

Currently, Brazil's Ministry of Health advises the universal screening of pregnant women only for Toxoplasmosis, HIV, Syphilis, and Hepatitis B⁸. The frequency of these infections and the possibility of treatment justify universal screening as a public health measure. According to the Ministry of Health, in 2018, the incidence rate of syphilis was 9/1000 live births⁹, that of HIV was 2,9/1000¹⁰, and that of hepatitis was 0.4/1000¹¹. The rate of congenital toxoplasmosis reported by Dubey et al.¹² was 0.5-2.3/1000 live births in 2012. The universal screening of other congenital infections as CMV, parvovirus B19, herpes simplex and ZIKV, is less

frequently performed and often impracticable due to the high-cost of screening. The investigation of congenital infections in newborns with risk characteristics could favor diagnosis to patients with higher probability of infection.

CMV presents an average rate of congenital infection between 0.2 to 2.4% in different countries and is more frequent in regions with lower socioeconomic status¹³. Despite the high rate of congenital infection in some countries, 90% of the newborns are asymptomatic at birth with no treatment indication¹⁴. According to European data, depending on the season, 1–13% of pregnant women may present seroconversion to parvovirus B19 during pregnancy, and 33–51% of the fetuses from these gestations may develop congenital infections. There is currently no vaccine or available treatment². Meanwhile, HSV affects one newborn out of every 3,200 pregnancies according to American data. Early treatment with Acyclovir results in reduced mortality and better neurologic outcomes⁴.

ZIKV was discovered in 2015, and after an epidemic in Brazil its association with congenital infection resulting in neurological conditions was remarked. Today, it is known that congenital infections may result in microcephaly, ophthalmological alterations, IUGR, and LBW^{3, 15}. There is currently no vaccine or treatment available and it is believed that understanding the infections in these groups of patients may direct public health policies towards a better prognosis for these newborns in adulthood.

The objective of this systematic review was to study the frequency of congenital CMV, parvovirus B19, herpes simplex, and ZIKV infections in newborns presenting prematurity, low-birthweight, and IUGR.

Materials/Subjects and Methods

The study was guided by the acronym P.E.C.O., in which population (P) was defined as newborns under 28 days of life; exposure (E) defined as patients presenting prematurity, low-birthweight, or IUGR; control group (C) defined as patients with adequate weight; outcome (O) as the frequency of congenital CMV, Parvovirus B19, Herpes Simplex, and ZIKV infections.

However, only one study comparing a control group with the studied population was found; the P.E.C.O. criteria was therefore adjusted to P.V.O., a model adapted by Biruel and Pinto¹⁶. In this model, (P) defines population, (V) defines studied variables, and (O) the outcome. In this context, the defined population was newborns under 28 days of life, the comparison variables were low-birthweight, prematurity, and IUGR, and the outcome was the frequency of congenital CMV, Parvovirus B19, Herpes Simplex, and ZIKV infections.

Papers were selected according to the “Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols” (PRISMA-P)^{17, 18}. Searches were performed using EMBASE, LILACS, SCOPUS, and MEDLINE databases and limited to papers that studied human newborns under the age of 28 days. Date, language, and type of study were not limited. The search strategy utilized was: (("Congenital infection"[All Fields] OR "Infectious Disease Transmission, Vertical"[All Fields]) AND ("Cytomegalovirus"[All Fields] OR "Cytomegalovirus Infections"[All Fields] OR "Zika Virus"[All Fields] OR "Zika Virus Infection"[All Fields] OR "Parvovirus B19, Human"[All Fields] OR "Parvovirus"[All Fields] OR "Parvoviridae Infections"[All Fields] OR "Herpes Simplex"[All Fields] OR "Herpes Genitalis"[All Fields] OR "Simplexvirus"[All Fields] OR "Herpesvirus 2, Human"[All Fields] OR "Herpesvirus 1, Human"[All Fields] OR "Encephalitis, Herpes Simplex"[All Fields])) AND ("infant, low birth weight"[All Fields] OR "infant, very low birth weight"[All Fields] OR "Infant, Extremely Low Birth Weight"[All Fields] OR "infant, small for gestational age"[All Fields] OR "obstetric labor, premature"[All Fields] OR "premature birth"[All Fields] OR "infant, premature"[All Fields] OR "infant, extremely premature"[All Fields] OR "fetal growth retardation"[All Fields]) AND ("humans"[MeSH Terms] AND "infant, newborn"[MeSH Terms]).

Original observational papers, case-controls, and cohorts that evaluated the prevalence of congenital CMV, ZIKV, Parvovirus B19, or Herpes Simplex infections in newborns with LBW, premature birth, or IUGR were included. We excluded duplicate papers, letters, and editorials. Review papers were excluded, as they did not fulfill the P.V.O. criteria. Case series or case reports were excluded due to their low level of evidence. Papers that fulfilled the inclusion criteria but did not address the P.V.O. criteria were used only with regards to the discussion.

All titles and abstracts were evaluated by two independent reviewers with the objective of selecting papers that fulfilled the P.V.O. criteria as well as the inclusion and exclusion criteria.

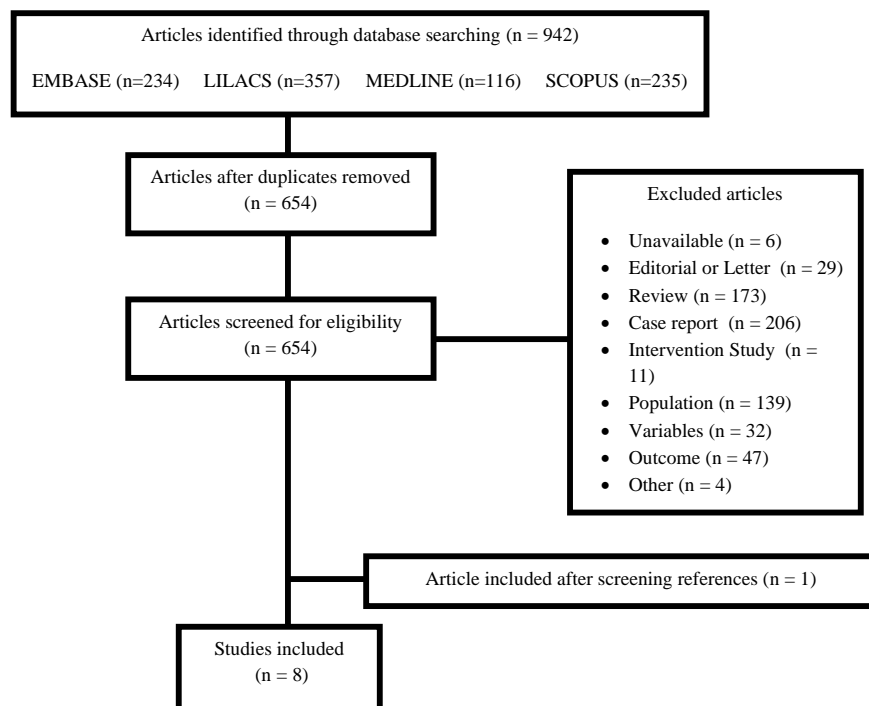
References were analyzed with the purpose of finding papers that were not selected in the initial search. In the presence of any doubt, the paper was read in its entirety. Divergences were evaluated by a third reviewer. The review was registered at Prospero 186658.

Data from the selected papers were extracted by a reviewer by means of a form. The following data were tabulated: publication year, first author, type of study, study period, objectives, population, and results. The STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology)^{19, 20} was used for the qualitative analysis of observational studies.

Results

The database search resulted in 942 articles. The following articles were excluded: 288 (31%) that were duplicates, 6 that were not retrieved in their entirety, 29 letters and editorials, 173 review articles, 206 case series or case reports, and 11 interventional studies that did not address the P.V.O. criteria. The flowchart of article selection is presented at Figure 1.

Figure 1 - Selection of studies evaluating the frequency of Cytomegalovirus in newborns with low birth weight, premature labor or small for gestational age.



Of the remaining papers, 139 did not approach the population, variables or outcome defined in the P.V.O. question; four were excluded for other causes. Two papers used serology for CMV diagnosis, which is not considered the gold standard. One paper used viral culture for diagnosis; however, the classification of SGA neonates was defined as birth weight below 2 standard deviations from the expected gestational age, instead of weight below the 10th percentile. In another study, blood, saliva and urine PCR for CMV was performed, but the result was not stratified by sample type and data analysis for this review was not considered.

After methodological selection, eight studies fulfilled the selection criteria: two retrospective cohort studies, three prospective cohort studies, and three cross-sectional studies. One of these papers was included after a review of the bibliographical references. Table 1 summarizes the findings of the studies and Table 2 addresses the quality evaluation according to the STROBE statement. All included studies addressed congenital CMV infection; papers addressing herpes simplex, ZIKV, or parvovirus B19 infections did not fulfill the defined inclusion criteria.

Regarding regional location, one study was performed in Brazil²¹, two in the USA^{22, 23} two in Spain^{24, 25}, one in Finland²⁶, one in Italy²⁷, and one in Canada²⁸. Furthermore, the population varied between studies and six of them investigated infection only in premature patients, varying from gestational age or birth weight. The others studies defined a specific gestational age or a weight range for the premature patients. In three studies, the population was composed of SGA patients, and one of them also studied patients with very low-birthweight. With respect to the studies quality, some of them did not report the study design, potential bias, missing data. The analysis of quality was difficult due to differences, including heterogeneity in population, methods, including the definition of SGA, laboratorial techniques used for diagnosis and the quality of some papers.

Discussion

Considering the high prevalence of congenital CMV infection^{13,14} and the fact that studies reporting congenital infection by Herpes Simplex, ZIKV or Parvovirus B19 did not meet the inclusion criteria, we chose to discuss CMV infection.

In the studies included in this review, only Yamamoto et al.²¹ compared the frequency of CMV in premature births compared with the control group. All other studies described data without comparing them to control population; instead, they compared them with previous studies. Premature patients and full-term newborns underwent urine collection for CMV investigation through culture or PCR. A congenital infection frequency of 2,1% (6/289) (95% CI 0.76–4.46) was found in premature patients and 1.8% (3/163) (95% CI 0.38. 5.28) in full-term newborns ($p=0.58$). Furthermore, there was no statistical significance in the frequency of infection between premature births at less than 34 weeks of gestation and newborns born at 34 to 36 weeks of gestation ($p=0.14$). The authors also identified that prenatal assistance was more frequent in full-term newborns group (92,6%) than pre-term group (84.5%) ($p=0.01$)²¹. This datum reinforces the possibility envisaged by the authors that other factors such as maternal conditions, smoking, and prenatal assistance may be more important to prematurity than CMV infection in the studied population.

Premature patients were also studied by Lorenzoni et al.²⁷ in Italy between 2012 and 2013. Premature and SGA full-term patients were investigated for congenital infection with CMV through urinal PCR. An incidence of 3.03% (10/329) was found in the premature group and of 3.7% (2/53) in the SGA group. The author reported a loss of 24% (121/504) in cases (patients that were not tested for congenital infection), which may alter the result in a significant way, increasing or reducing the frequency of infection. Previous studies in Italy²⁹ showed an incidence of between 0.57-1% for congenital infection in newborns without risk characteristics.

Patients with a gestational age <34 weeks were investigated for congenital CMV infection in Finland between 1989 and 1990. For the diagnosis, Panhani and Heinonen²⁶ performed viral culture for the identification of monoclonal antibodies for CMV and found a frequency of 4,8% (4/83). Studies conducted in newborns without defined risk characteristics in the same region reported frequencies between 0,5-1,3%^{30, 31}. The biggest frequency found by Panhani and Heinonen²⁶ could be justified by the small sample group.

Meanwhile, Balcells et al.²⁵ undertook a multicenter study in Spain between 2013 and 2014 to evaluate the frequency of congenital and acquired CMV infection in premature patients weighing less than or equal to 1.500 g. Patients who presented with suspected congenital infections underwent a urine PCR at birth, and those who had a positive result were diagnosed with a congenital infection. Patients that were not thought to have a congenital infection underwent urine collection for PCR at 4 to 6 weeks. If the patient tested positive in the first

examination, additional PCR was performed on dried blood (neonatal screening) and/or in collected urine until 14 days of life to confirm or rule out congenital infection. In a population of 1,236 patients, 10 (0.8%) cases of congenital infection and 49 (4%) cases of acquired infections were confirmed. According to the study, the frequency of congenital infection was found to be similar to that previously described in the literature for full-term newborns in the region. Through a similar study design and in the same country, Domínguez et al.²⁴ studied premature patients with a gestational age of 31 weeks or less and a birth weight less than or equal to 1.500 g. Newborns suspected of having a congenital infection were investigated at birth, and other patients underwent urine PCR screening for 5 weeks. To rule out or to confirm the infection, a dried blood PCR (neonatal screening) was also performed. In total, eight congenital infections were confirmed in a population of 342 premature patients resulting in an incidence of 2,3% between 2006 and 2010. It was not possible to define the type of infection in 10 (2.9%) cases; however, in 35 (10.2%) cases, the infection was defined as acquired. Even though Domínguez et al.²⁴ and Yamamoto, et al.²¹ found a similar frequency of congenital infection, they proposed a screening protocol for CMV with the purpose of diagnosing congenital and acquired infections.

In the studies of Balcells et al.²⁵ and Domínguez et al.²⁴ PCR for CMV identification was performed in dried blood (neonatal screening) with the purpose of ruling out or confirming congenital infection. This diagnostic method presents variable sensitivity (35-100%) that depends on the methodology³². Balcells et al.²⁵ reported a sensitivity of 86% with the methodology used in the study, while Domínguez et al.²⁴ did not report the sensitivity of the method used. Considering these observations, the sensitivity of the dried blood examinations, and the selection of symptomatic cases defined by medical assistance to be screened at birth, may have influenced the detection of congenital cases. However, a divergence in the frequency of congenital infection was observed in both studies. This can be explained by the fact that Balcells et al.²⁵ included a population four times larger including 22 neonatal units and allowing external variability in the sample, what can represent a more general observation of that population. Meanwhile, Domínguez et al.²⁴ included patients from only one center. Although both studies included newborns under 1.500g, Domínguez et al.²⁴ selected premature patients under 31 weeks, what may have resulted in the selection of the most symptomatic patients with congenital infection.

An American study by Turner et al.²², conducted between 1993 and 2008, also studied the incidence of congenital CMV infection among premature births with very low weight (weight ≤ 1.500 g). However, these patients were investigated through urine and saliva collection for rapid culture at birth. They diagnosed 18 cases of congenital infection in 4,594 patients, with an incidence of 0.39% (95% CI 0.25%–0.62%), which was divergent from that reported in previous studies emphasizing an incidence of 0.5-1.0% in full-term patients in the region^{33, 34}.

Espiritu, et al.²³ also studied the incidence of CMV in SGA patients, but the study was conducted in the USA between 2007 and 2012. Through revision of the medical records, 386 SGA patients were identified in this period and 123 (32%) were submitted for urine collection for the confirmation of CMV by PCR. No patient with congenital infection was identified. In addition, it was found that 79% of tested patients presented with a maternal, fetal, or gestational reason for LBW. It may be inferred that the low investigation rate may have underestimated the congenital infection frequency in this study. In a similar way, a Canadian study conducted by Vaudry et al.²⁸ between 2003 and 2004, reported a congenital CMV infection frequency of 1.7% (1/58) in SGA patients. The study also reviewed patients with very low-birthweight (under 1,250 g) and reported a frequency of 1.3% (1/79). Previous study found a frequency of 0.42% (64/15,212)³⁵ of congenital infection in newborns at the same country, however, 76 cases in 213 patients overcame with neonatal death or hospital discharge and the studied presented a small sample size, which may have influenced the frequency of infection in the study conducted by Vaudry et al.²⁸.

When comparing studies in SGA patients, Lorenzoni et al.²⁷ studied SGA patients below the 3rd percentile and found a frequency of 3.7%. Using the same criteria, Vaudry et al.²⁸ found a frequency of 1.7%. The highest frequencies found by Lorenzoni et al.²⁷ and Vaudry et al.²⁸ may be attributed to the selection criteria due to which the studies may have selected the most symptomatic patients and thus, the patients most likely to be infected. The three studies reported important data loss, which may have influenced the results. Yamamoto et al.²¹, Balcells et al.²⁵, and Domínguez et al.²⁴ did not focus on the study of patients with IUGR; however, they observed the highest number of IUGR in the infected patients.

The heterogeneity in the included papers made difficult to analyze the results and can be the responsible for the wide variation in frequency found for congenital CMV infection (0 to 4.8%).

Conclusion

Knowledge of characteristics associated with congenital infections may direct investigations towards patients with a higher probability of presenting the infection. However, the data are scarce, controversial, and currently, the real association of these risk population with the CMV infection is variable.

In this context, studies concerning screening in multiple centers and with higher number of newborns are necessary to establish the association of congenital CMV, ZIKV, Parvovirus B19, and herpes simplex infections with prematurity, IUGR, and low-birthweight.

Research funding: Institucional Scientific Initiation Scholarships was supported by Federal University of Minas Gerais/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq – Brazil.

Author contributions: All authors have accepted responsibility for the entire content of this manuscript and approved its submission.

Competing interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval: The local Institutional Review Board deemed the study exempt from review.

References

1. Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. Clin Perinatol. 2015;42(1):77-103, viii. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001>
2. Puccetti C, Contoli M, Bonvicini F, Cervi F, Simonazzi G, Gallinella G, et al. Parvovirus B19 in pregnancy: possible consequences of vertical transmission. Prenat Diagn. 2012;32(9):897-902. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.3930>

3. Platt DJ, Miner JJ. Consequences of congenital Zika virus infection. *Curr Opin Virol.* 2017;27:1-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.09.005>
4. James SH, Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex virus infection: epidemiology and treatment. *Clin Perinatol.* 2015;42(1):47-59, viii. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.10.005>
5. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry, report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO; 1995. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9241208546> .
6. World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems. 10th revision, 2nd edition. Geneva: WHO: 2004. Available at: <https://www.cdc.gov/nchs/data/dvs/icd10fct.pdf> .
7. World Health Organization. Born too soon: the global action report on preterm birth. Geneva: WHO; 2012. Available from: https://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon-report.pdf
8. BRASIL. Ministério da saúde, Instituto sírio-Libanês de Ensino e Pesquisa. Protocolos da atenção básica: saúde das mulheres. Brasília: MS, 2016. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/protocolo_saude_mulher.pdf. Acesso em 12/10/18.
9. BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico especial: Sífilis 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Available at: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/66888/boletim_sifilis_2019_internet_1.pdf?file=1&type=node&id=66888&force=1
10. BRASIL. Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Especial: HIV 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Available at: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/67064/boletim_hiv_aids_2019.pdf?file=1&type=node&id=67064&force=1

11. BRASIL. Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Especial: Hepatites 2019. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Available at: http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/66453/boletim_hepatites_2019_c_.pdf?file=1&type=node&id=66453&force=1
12. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 2012;139(11):1375-424. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0031182012000765>
13. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Alford CA. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Semin Perinatol*. 1983;7(1):31-42. Retrieved from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6302912/>
14. Luck SE, Wieringa JW, Blázquez-Gamero D, Henneke P, Schuster K, Butler K, et al. Congenital Cytomegalovirus: A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(12):1205-13. Available at: <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000001763> .
15. França GVA, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, Henriques CMP, Carmo EH, Pedi VD, et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. *The Lancet*. 2016;388(10047):891-7. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30902-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30902-3) .
16. Biruel E, Pinto R. Bibliotecário: um profissional a serviço da pesquisa. Maceió, Alagoas: XXIV Congresso Brasileiro de Biblioteconomia, Documentação e Ciência da Informação; 2011. Retrieved from: https://www.academia.edu/9594560/Bibliotec%C3%A1rio_um_profissional_a_servi%C3%A7o_da_pesquisa
17. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. 2015;4:1. Available at: <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1> .

18. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *BMJ*. 2015;350:g7647. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj.g7647> .
19. Vandembroucke JP, von Elm E, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Epidemiology*. 2007;18(6):805-35. Available at: <https://doi.org/10.1097/ede.0b013e3181577511>
20. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandembroucke JP, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Lancet*. 2007;370(9596):1453-7. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(07\)61602-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(07)61602-x)
21. Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM, Cristina P, Pinto G, Moraes Figueiredo LT, Jorge SM. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(2):188-92. Available at: <https://doi.org/10.1097/00006454-200102000-00014>
22. Turner KM, Lee HC, Boppana SB, Carlo WA, Randolph DA. Incidence and impact of CMV infection in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2014;133(3):e609-15. Available at: <https://doi.org/10.1542/peds.2013-2217>
23. Espiritu MM, Bailey S, Wachtel EV, Mally PV. Utility of routine urine CMV PCR and total serum IgM testing of small for gestational age infants: a single center review. *J Perinat Med*. 2018;46(1):81-6. Available at: <https://doi.org/10.1515/jpm-2016-0287> .
24. Álvarez Domínguez E, Figueras Aloy J, Botet Mussons F, Marcos Maeso MA, Pérez Fernández JM. [Screening for cytomegalovirus infection in very low birth weight infants]. *An Pediatr (Barc)*. 2013;79(1):3-9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.09.018> .
25. Balcells C, Botet F, Gayete S, Marcos M, Dorronsoro I, de Alba C, et al. Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. *J Perinat Med*. 2016;44(5):485-90. Available at: <https://doi.org/10.1515/jpm-2015-0325> .

26. Panhani S, Heinonen KM. Screening for congenital cytomegalovirus infection among preterm infants born before the 34th gestational week in Finland. *Scand J Infect Dis*. 1994;26(4):375-8. Available at: <https://doi.org/10.3109/00365549409008607>
27. Lorenzoni F, Lunardi S, Liembruno A, Ferri G, Madrigali V, Fiorentini E, et al. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection in preterm and small for gestational age infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014;27(15):1589-93. Available at: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.871253>
28. Vaudry W, Rosychuk RJ, Lee BE, Cheung PY, Pang X, Preiksaitis JK. Congenital cytomegalovirus infection in high-risk Canadian infants: Report of a pilot screening study. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2010;21(1):e12-9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2010/942874>
29. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol*. 2007;17(4):253-76. Available at: <https://doi.org/10.1002/rmv.535> .
30. Harris S, Ahlfors K, Ivarsson S, Lernmark B, Svanberg L. Congenital cytomegalovirus infection and sensorineural hearing loss. *Ear Hear*. 1984;5(6):352-5. Available at: <https://doi.org/10.1097/00003446-198411000-00006> .
31. Hicks T, Fowler K, Richardson M, Dahle A, Adams L, Pass R. Congenital cytomegalovirus infection and neonatal auditory screening. *J Pediatr*. 1993;123(5):779-82. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(05\)80859-5](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(05)80859-5) .
32. de Vries JJ, Barbi M, Binda S, Claas EC. Extraction of DNA from dried blood in the diagnosis of congenital CMV infection. *Methods Mol Biol*. 2012;903:169-75. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-937-2_10.
33. Boppana SB, Ross SA, Shimamura M, Palmer AL, Ahmed A, Michaels MG, et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. *N Engl J Med*. 2011;364(22):2111-8. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1006561>

34. Fowler KB, Stagno S, Pass RF. Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn populations, 1980-1990. *J Infect Dis.* 1993;168(3):552-6. Available at: <https://doi.org/10.1093/infdis/168.3.552>
35. Larke RP, Wheatley E, Saigal S, Chernesky MA. Congenital cytomegalovirus infection in an urban Canadian community. *J Infect Dis.* 1980;142(5):647-53. Available at: <https://doi.org/10.1093/infdis/142.5.647>

Table 1 – Characteristics of the studies that evaluated the CMV frequency in newborns with low-birthweight, prematures or with Intrauterine Growth Restriction, Systematic Review, 1994-2018.

YEAR, AUTHOR	COUNTRY	TYPE OF STUDY, PERIOD	OBJECTIVE	POPULATION	RESULTS (Congenital infection with CMV confirmed)
1994, Panhani ²⁶	Finland	Cross-sectional Study, 1989 to 1990	Describe the result of one year of screening CMV in patients with less than 34 weeks of GA and the outcome of the infected patients.	PNB (GA < 34w): 83	4 cases - 4.8%
2001, Yamamoto ²¹	Brazil	Cross-sectional Study (Does not define the period)	Determine the frequency of congenital infections with CMV in PNB and FTNB ^b . Describe the clinical alterations found.	PNB: 289 FTNB (control): 163	PNB: 6 cases – 2.1% (95% CI 0.76 – 4.46) FTNB: 3 cases – 1.8% (95% CI 0.38 – 5.28) (p = 0.58)
2010, Vaudry ²⁸	Canada	Prospective Cohort, 2003 to 2004	Determine the maternal seroprevalence, risk factors, clinical characteristics and incidence of congenital infection with CMV using various diagnostic tests in a cohort of high risk patients.	NB VLW (weight ≤1.250g): 79 NB SGA: 58	VLW: 1 case - 1.3% SGA: 1 case - 1.7%
2012, Domínguez ²⁴	Spain	Prospective Cohort, 2006 to 2010	Determine the clinical relevance of the congenital and acquired infections with CMV in extreme prematures.	PNB (GA ^f ≤ 31w and weight ≤ 1.500g): 342	8 cases - 2.3%
2014, Lorenzoni ²⁷	Italy	Cross-sectional Study, 2012 to 2013	Evaluate the occurrence of congenital CMV in PNB and/or SGA ^c with the purpose of identifying risk categories to the routine screening.	PNB: 329 SGA: 54	PNB: 10 cases- 3.03% SGA: 2 cases - 3.7%

2014, Turner ²²	USA	Retrospective Cohort, 1993 to 2008	Determine the incidence and the outcome of congenital CMV in PNB with VLW ^d .	PNB e VLW (weight \leq 1.500g): 4594	18 cases - 0.39% (95% CI 0.25%– 0.62%)
2016, Balcells ²⁵	Spain	Prospective Cohort, 2013 to 2014	Determine the epidemiology of congenital and acquired infections with CMV in prematures with weight \leq 1.500g and analyze the efficiency of freezing breast milk at lowering the CMV transmission rate.	PNB ^a (weight \leq 1.500g): 1236	10 cases - 0.8%
2017, Espiritu ²³	USA	Retrospective Cohort, 2007 to 2012	Evaluate the utility of total IgM collection and urinal PCR for CMV routinely in patients SGA. Evaluate other risk factors for IUGR in the tested patients.	NB ^e SGA: 123	Zero cases

^aPNB = premature newborn; ^bFTNB = full-term newborn; ^cSGA = small for gestational age; ^dVLW = very low-birthweight; ^eGA = gestational age; ^fNB = newborn;

Table 2 – Quality evaluation according to the STROBE statement, studies of CMV frequency in newborns with low-birthweight, prematures or with Intrauterine Growth Restriction, Systematic Review, 1994-2018.

Year, Author	Fulfilled criteria (Total n=22)	Fulfilled criteria (%)
1994, Panhani et al ²⁶	4/22	18.2%
2001, Yamamoto ²¹	13/22	59.1%
2010, Vaudry ²⁸	16/22	72.7%
2012, Domínguez ²⁴	7/22	31.8%
2014, Lorenzoni ²⁷	9/22	40.9%
2014, Turner ²²	19/22	86.4%
2016, Balcells ²⁵	11/22	50%
2017, Espiritu ²³	13/22	59.1%

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Identificar a prevalência de infecção congênita por Citomegalovírus e o perfil de citocinas em recém-nascidos com baixo peso, crescimento intrauterino restrito ou prematuros, em hospitais de referência de Belo Horizonte e comparar com a prevalência de infecção congênita por Citomegalovírus e o perfil de citocinas de pacientes a termo, hígidos e com peso adequado.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever as características perinatais e clínicas de recém-nascidos com crescimento intrauterino restrito, pequenos para a idade gestacional ou prematuros, sem causa definida, e comparar com recém-nascidos a termo, hígidos e com peso adequado;
- Descrever as características perinatais e clínicas dos pacientes infectados por Citomegalovírus e comparar com o grupo de pacientes não infectados;
- Comparar a prevalência encontrada da infecção congênita por Citomegalovírus entre o grupo de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional, com baixo peso ou prematuros sem causa definida e o grupo de recém-nascidos a termo, hígidos e com peso adequado;
- Descrever o perfil de citocinas no grupo de pacientes infectados por Citomegalovírus e comparar com o grupo de pacientes não infectados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento, local e período do estudo

Trata-se de estudo transversal, multicêntrico, realizado simultaneamente em quatro hospitais de Belo Horizonte: Hospital das Clínicas da UFMG, Maternidade Odete Valadares - FHEMIG, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves no período de 2016 a 2020. Todo o processo de pesquisa foi realizado de forma completa em cada uma das instituições participantes e foi coordenado pelo preponente. Os quatro hospitais prestam assistência pública e são considerados referência para alto risco obstétrico e neonatal no estado de Minas Gerais. Realizam ao todo em torno de 1600 partos por mês.

4.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no grupo caso os recém-nascidos sem doença materna ou obstétrica, sem alteração placentária, fetal ou do recém-nascido que direcionasse a um diagnóstico específico e apresentassem as seguintes características:

- Prematuros, sem causa aparente, com IG > 28 semanas e/ou peso > 1000g e/ou;
- Pequenos para a idade gestacional e/ou;
- Com baixo peso ao nascimento.

Foram incluídos no grupo controle os recém-nascidos sem sintomas sugestivos de infecção congênita, sem doença associada ou atribuída a possível infecção (congênita), com peso acima de 2.500g, adequados para a idade gestacional, sem histórico de prematuridade ou crescimento intrauterino restrito na gestação e que a gestante não tenha apresentado nenhuma comorbidade ou uso de medicamento que possa ter influência no crescimento fetal e/ou prematuridade.

4.3 Critérios de Exclusão

- Recém-nascidos que, apesar de preencherem os critérios de inclusão, estavam instáveis clinicamente para coleta de amostra de sangue.
- Recém-nascidos que não receberam consentimento de seu responsável legal para participação no estudo em questão.

4.4 Definições

As curvas de crescimento do Intergrowth-21st (The international Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century)¹ foram utilizadas para a classificação dos recém-nascidos por retratarem melhor o crescimento fetal/neonatal em condições ideais. Em relação às definições para os padrões de crescimento (PIG, AIG) e maturidade do recém-nascido (RNPT e RNT), optou-se por adotar as definições da Organização Mundial de Saúde²⁻⁴:

- Crescimento Intrauterino Restrito: quando o feto não atinge o crescimento intraútero esperado para o sexo e idade gestacional, permanecendo abaixo do percentil 10th na curva de crescimento²;
- Recém-nascido pequeno para a idade gestacional: aquele que nasce com peso abaixo do percentil 10th para o sexo e idade gestacional²;
- Recém-nascido adequado para a idade gestacional: aquele que nasce com peso entre os percentis 10th e 90th para o sexo e idade gestacional²;
- Recém-nascido com baixo peso: aquele que nasce com peso abaixo de 2.500 gramas³;
- Recém-nascido prematuro: aquele que nasce antes de completar 37 semanas de gestação⁴;
- Recém-nascido a termo: aquele que nasce entre 37 e 42 semanas de gestação⁴.

4.5 Coleta de informações e espécimes clínicos dos grupos estudados

4.5.1 Grupo caso

Em cada hospital foram definidos o pesquisador e o aluno de iniciação científica responsáveis pela identificação dos pacientes que preenchiam critério de inclusão no grupo caso. Após identificação, o responsável legal pelo paciente era abordado para autorização

e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1). O paciente era então submetido a coleta de sangue, simultaneamente a coleta de exames de rotina indicados pelo médico assistente, e uma amostra era encaminhada para o processamento e armazenamento até a realização de PCR para Citomegalovírus e dosagem de citocinas.

Os dados clínicos e propedêutica realizados rotineiramente para investigação no pré-natal e de assistência ao recém-nascido foram coletados em formulário próprio (APÊNDICE 2), diretamente do prontuário médico, não havendo interferência na rotina assistencial. A seleção dos pacientes do grupo caso ocorreu de acordo com o fluxograma a seguir (Figura 1):

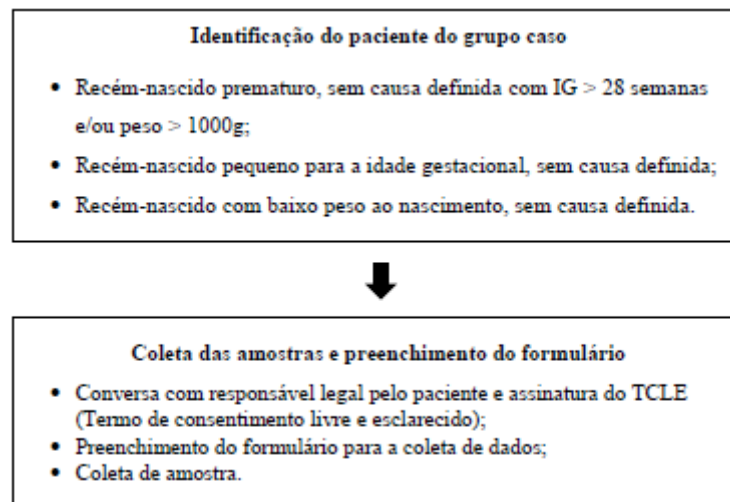


Figura 1- Fluxograma de seleção dos pacientes, preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, formulário para a coleta de dados e coleta de amostra para o grupo caso, 2016 a 2020.

4.5.2 Grupo controle

Os pacientes do grupo controle foram selecionados após identificação, pelo laboratório, de amostras de repositório, coletadas de recém-nascidos a termo, sem doença associada ou atribuída a possível infecção (congênita) conhecida, adequados para a idade gestacional, sem crescimento intrauterino restrito, cuja mãe não apresentou doença de base, no pré-natal ou periparto (obstétricas ou placentárias) e não utilizou medicamento que

contraindicasse a inclusão no estudo, com indicação da propedêutica pelo médico assistente devido a outros diagnósticos. Os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes foram verificados através do prontuário. O responsável legal pelo paciente era então abordado para autorização e assinatura do TCLE (APÊNDICE 3) e as amostras eram então encaminhadas para processamento, armazenamento e posterior realização de PCR para Citomegalovírus e dosagem de citocinas.

Os dados clínicos, a propedêutica realizada na rotina do pré-natal e assistência ao recém-nascido foram coletados em formulário próprio, diretamente do prontuário médico, não havendo interferência na rotina assistencial. A seleção dos pacientes do grupo controle ocorreu de acordo com o fluxograma a seguir (Figura 2):

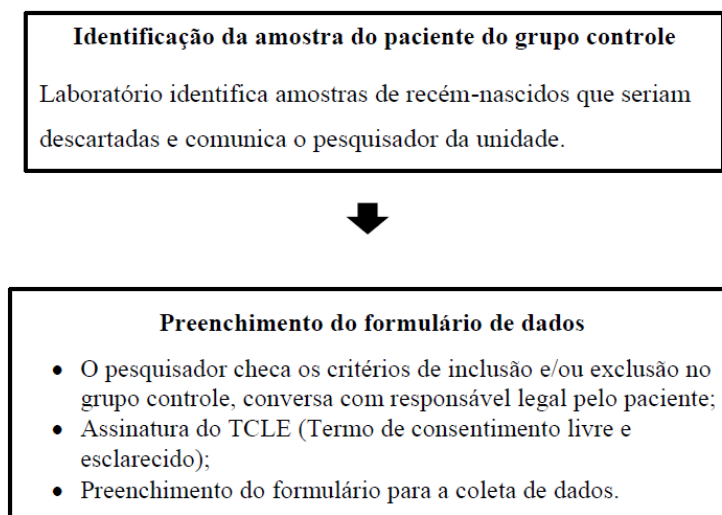


Figura 2- Fluxograma de seleção das amostras, preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e formulário para a coleta de dados para o grupo controle, 2016 a 2020.

4.6 Amostra

Considerou-se estudo prévio, realizado em etapa anterior do projeto, de Oliveira et al. ⁵ que identificou 7,14% de infecção viral em 70 placentas estudadas. Além disso, considerou-se

possíveis perdas associadas a processamento e armazenamento das amostras com estimativa de 100 em cada grupo.

Posteriormente, de acordo com a qualidade das amostras, foram selecionados 80 pacientes para a pesquisa de DNA do Citomegalovírus através da realização de *Polimerase Chain Reaction* (PCR) e dosagem de citocinas na proporção de 1:1. Após realização de PCR para Citomegalovírus, com controle positivo e negativo, foram analisadas 39 amostras no grupo caso e 36 amostras no grupo controle.

4.7 Processamento de espécimes clínicos

4.7.1 Coleta, centrifugação e armazenamento de amostras

Cada paciente foi submetido a uma coleta de 2 ml de sangue utilizando frasco de EDTA, em seguida, as amostras foram identificadas e encaminhadas ao laboratório para centrifugação em até 2 horas. O protocolo de centrifugação utilizado foi: 15 minutos, 3.000G, 4°C. O plasma foi então armazenado a -80°C até o processamento. As amostras que não estavam viáveis ou que sofreram descongelamento, não foram processadas. Todos os procedimentos e análises em sangue periférico foram realizados em parceria com o Laboratório de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG.

4.7.2 Realização da *Polimerase Chain Reaction* para Citomegalovírus

O PCR para Citomegalovírus foi realizado através da técnica *Nested PCR*, como descrito por Green e Sambrook⁶, com o objetivo de aumentar a sensibilidade e/ou especificidade do exame. A técnica consiste em amplificar uma sequência maior do DNA que contém o gene alvo na primeira reação, na segunda reação ocorre a amplificação do gene alvo através do material da primeira reação. Os *primers* utilizados foram descritos por McIver et al.⁷ e foram produzidos pela IDT – *Integrated DNA Technologies*. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas estão descritas no Quadro 1. O BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) foi utilizado para avaliar a sensibilidade/especificidade dos primers utilizados.

Quadro 1 - Sequências de oligonucleotídeos utilizadas na *Polimerase Chain Reaction* para Citomegalovírus.

Primeira reação	<i>Primer</i> CMV 1 CMVOF- AAG GTT CGA GTG GAC ATGGT - 20 bases
	<i>Primer</i> CMV 2 - CMVOR- CAG CCA TTG GTG GTC TTA GG - 20 bases
Segunda reação	<i>Primer</i> CMV 3 - CMVIF- GAG CCT TTC GAG GAG ATG AA - 20 bases
	<i>Primer</i> CMV 4 - CMVIR- GGC TGA GTT CTT GGT AAA GA - 20 bases

Fonte: elaborado pela autora

Para a extração do DNA, foi utilizado o Kit *Purelink Viral RNA/DNA Mini Kit* (catálogo 12280050 –*ThermoFisher Scientific*) seguindo as recomendações do fabricante. Foram extraídas ainda amostras para controle positivo (ATG-73) e negativo (ATG-126) de Citomegalovírus (CMV – Fabricante Controllab).

Na primeira reação foram utilizados os primers externos (CMVOF e CMVOR) e o Kit *GoTaq Colorless Master Mix* (catálogo M7133 – Promega) nos seguintes volumes: 5uL de água ultrapura, 10uL de HotStart, 1,5 uL de cada *primer* e 2 uL de amostra (volume final de 20 uL). As amostras foram então submetidas à ciclagem (termociclador MX3500, GE Healthacare) de acordo com o protocolo adaptado de McIver et al. ⁷:

- 95°C por 5 minutos (desnaturação inicial);
- 39 ciclos
 - 95°C por 45 segundos (desnaturação);
 - 62°C por 1 minuto e 30 segundos (anelamento);
 - 72°C por 1 minuto e 30 segundos (extensão);
- 72°C por cinco minutos (extensão final)
- 4°C (espera final)

Na segunda reação foram utilizados os primers externos (CMVIF e CMVIR), o produto final da primeira reação e o Kit *GoTaq Colorless Master Mix* (catálogo M7133 – Promega) seguindo os mesmos volumes utilizados na primeira reação. As amostras foram então submetidas à ciclagem (termociclador MX3500, GE Healthacare) de acordo com o protocolo adaptado de McIver et al. ⁷:

- 95°C por 5 minutos (desnaturação inicial);
- 39 ciclos

- 95°C por 45 segundos (desnaturação);
- 60°C por 1 minuto (anelamento);
- 72°C por 1 minuto (extensão);
- 72°C por cinco minutos (extensão final)
- 4°C (espera final)

Para o resultado qualitativo do PCR foi utilizada a eletroforese em gel de agarose 1%. O padrão utilizado foi o de 100pb (Ladder 100 PB – Ludwig Biotectologia) e a imagem foi capturada com o equipamento ImageQuant 400 (GE Healthcare), o fragmento da reação possui 249pb. O padrão, os controles positivo e negativo estão registrados na Figura 3.



Padrão / Controle + / Controle -

Figura 3 - Eletroforese do padrão, controle positivo e controle negativo utilizados na realização da Polimerase Chain Reaction para o Citomegalovírus. Fonte: cedido pelo Laboratório de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG

4.7.3 Dosagem de citocinas

O kit de imunoenensaio utilizado foi o *Milliplex MAP human high sensitivity T cell assay* (HSTCMAG-28K - EMD Millipore) para quantificar os níveis de expressão de 45 citocinas no plasma. Foram avaliados os seguintes analitos: MIP-1alpha, SDF-1alpha, IL-27, LIF, IL-1beta,

IL-2, IL-4, IL-5, IP-10, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, PIGF-1, Eotaxin, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-31, IL-1RA, SCF, RANTES, IFN-gamma, GM-CSF, TNF-alpha, HGF, MIP-1beta, IFN-alpha, MCP-1, IL-9, VEGF-D, TNF-beta, bNGF, EGF, BDNF, GRO-alpha, IL-1alpha, IL-23, IL-15, IL-18, IL-21, FGF-2, IL-22, PDGF-BB, VEGF-A em placas de 96 poços, de acordo com as instruções do fabricante. As placas foram lidas utilizando um sistema Luminex 100/200. Foi estabelecida aquisição entre 8.000 e 15.000 eventos para discriminar quaisquer eventos duplos e para garantir que apenas micropartículas únicas fossem medidas. Cerca de 50 microlitros, por ensaio, foram recolhidos individualmente em cada poço, utilizado posteriormente, para gerar a intensidade média de fluorescência (IMF) para um dado marcador. As intensidades médias de fluorescência foram convertidas em concentrações (pg/mL) utilizando a equação derivada da escala padrão de cada analito pelo software Milliplex Analyst. Cada amostra foi medida em duplicata. As análises foram realizadas em amostras que não passaram por processo de descongelamento.

4.8 Análise estatística

O banco de dados e análise estatística foram realizados com *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 19.0 (IBM, Armonk, NY). Dados clínicos, obstétricos e neonatais foram considerados na análise. A análise descritiva foi realizada com frequência e percentual de variáveis categóricas, média e desvio padrão de variáveis quantitativas. A análise comparativa das variáveis entre o grupo caso e controle e entre recém-nascidos infectados e não infectados pelo Citomegalovírus incluiu qui-quadrado ou teste de Fisher para variáveis categóricas e Teste T ou Mann Whitney para variáveis quantitativas. Significância estatística foi considerada $p < 0,05$.

4.9 Considerações éticas

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa de todos os hospitais envolvidos (Hospital das Clínicas-UFMG, Maternidade Odete Valadares – FHEMIG, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves), os pareceres se encontram nos Anexos 1 a 6.

Para o grupo caso, foi realizada a coleta de sangue periférico do recém-nascido, quando consentido pelos pais ou responsável legal e paciente estável clinicamente. As complicações são relacionadas ao procedimento, com complicações da técnica como sangramento e hematomas locais. Esse tipo de procedimento faz parte, frequentemente, da assistência ao recém-nascido internado. No grupo controle, não foram realizadas novas coletas de exames de sangue, sendo utilizado o material do repositório, colhido por outros diagnósticos e que seria descartado pelo laboratório.

Considera-se que os benefícios da investigação de infecção congênita pelo Citomegalovírus superam os riscos, uma vez que os resultados podem contribuir na assistência de gestantes e na abordagem precoce de recém-nascidos infectados.

4.10 Financiamento

O trabalho foi realizado com auxílio de recurso obtido pelo Edital Universal FAPEMIG/2014 e através de Bolsa Institucional de Iniciação Científica UFMG/FAPEMIG e UFMG/CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;384(9946):857-68.
2. WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. *Physical status : the use and interpretation of anthropometry : report of a WHO Expert Committee*. Geneva: World Health Organization; 1995. x, 452 pages p.
3. World Health Organization. *International statistical classification of diseases and related health problems*. 10th revision, 2nd edition. ed. Geneva: World Health Organization; 2004.

4. Althabe F, Howson CP, Kinney M, Lawn J, World Health Organization. Born too soon : the global action report on preterm birth. Geneva, Switzerland: World Health Organization,; 2012. Available from: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon-report.pdf Available from: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/preterm_birth_report/en/index.html.
5. Oliveira GM, Pascoal-Xavier MA, Moreira DR, Guimarães VS, Aguiar RALP, Miranda DM, et al. Detection of cytomegalovirus, herpes virus simplex, and parvovirus b19 in spontaneous abortion placentas. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;32(5):768-75.
6. Green MR, Sambrook J. Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harb Protoc.* 2019;2019(2).
7. McIver CJ, Jacques CF, Chow SS, Munro SC, Scott GM, Roberts JA, et al. Development of multiplex PCRs for detection of common viral pathogens and agents of congenital infections. *J Clin Microbiol.* 2005;43(10):5102-10.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Artigo Original 1

PREVALENCE AND CYTOKINES PROFILE IN PRETERM, SMALL FOR GESTATIONAL AGE AND LOW BIRTH WEIGHT IN NEWBORNS WITH AND WITHOUT CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

Abstract

Objective: The aim of this study is to determine the prevalence of congenital CMV infection in the population of preterm, low birth weight or IUGR patients and compare it with the prevalence in patients without a risk factor. Also, describe the cytokine profile found in both groups and identify clinical and epidemiological differences.

Method: Case-control, multicenter study, carried out from 2016 to 2020. Patients with restricted intrauterine growth, low birth weight or premature infants were included in the case group, while patients with adequate weight, born at term, were included in the control group. Among the patients included in the study, 75 patients were selected for CMV Polymerase Chain Reaction (PCR) and cytokine dosage, 39 in the case group and 36 in the control group.

Results: Among the 213 patients with the sample collected, 75 patients were diagnosed with Cytomegalovirus and cytokine dosage, 39 in the case group and 36 in the control group. PCR for CMV was positive in 7 patients, resulting in a prevalence of 9%. In the control group 3 (8%) patients were positive and in the case group 4 (10%), without statistical significance ($p=0.77$). The dosage of cytokines showed no statistical difference between the two groups. The cytokines IFN α , TNF β and IL-10 showed higher dosage in the group of patients infected with Cytomegalovirus when compared to the group of non-infected ones ($p<0.05$).

Conclusion: Although Cytomegalovirus can result in prematurity, IUGR and low birth weight, the interaction between congenital infection and these risk factors is not well established. Further studies are needed to better define this relationship. Furthermore, the cytokine profile found suggests that congenital CMV infection may result in an alteration in the inflammation

cascade, however, further studies are needed to confirm and establish the importance of the alterations found.

Key words: infant, newborn; cytomegalovirus; polimerase chain reaction; cytokines.

Introduction

Cytomegalovirus (CMV) is the most frequent agent of congenital viral infections, affecting around 0.2 to 2.4% of live births in different countries. Transmission is intrauterine, and the infected newborn can present a clinical presentation similar to neonatal sepsis, impaired vision and hearing, neuropsychomotor development delay, among others, which causes a great impact on public health worldwide¹⁻⁷.

Universal screening for congenital CMV infection in newborns is not established due to cost-benefit issues, considering the necessary diagnostic tests and that most newborns are asymptomatic, with no indication for treatment. On the other hand, early neonatal diagnosis would enable treatment and rehabilitation in the first months of life, resulting in a better prognosis in adulthood. It is known that fetuses with congenital CMV infection can evolve with intrauterine growth restriction (IUGR), low birth weight (LBW) or preterm birth^{2-5, 7-9}, however, the prevalence of this congenital infection in patients with risk factors is uncertain so far. Data are scarce and controversial in the literature review^{2-5, 8-10}.

In this context, screening patients with IUGR, BP or premature infants would enable the targeting of resources to patients with a higher probability of infection. In addition, infected newborns have prolonged viral replication, which may reflect the inability to produce an adequate immune response and, consequently, result in a worse prognosis¹¹⁻¹³. Understanding the role of the inflammatory cascade and cytokines can help in early diagnosis, identify patients with a worse prognosis and indicate the need to search new treatments.

The aim of this study was to determine the prevalence of congenital CMV infection in the population of patients with IUGR, low birth weight or premature infants without a defined

cause, to compare with patients without these risk factors, and to describe the cytokine profile in these patients.

Methods

This is a cross-sectional study, carried out in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil, from 2016 to 2020. Newborns were collected in four reference maternity hospitals: Hospital das Clínicas da UFMG, Maternidade Odete Valadares - FHEMIG, Hospital Sofia Feldman and Hospital Risoleta Tolentino Neves.

The researcher responsible for identifying the patients who met the inclusion criteria in the case group was defined in each hospital. The inclusion criteria were: premature newborns, with no apparent cause, with GA > 28 weeks and/or weight > 1000g, and/or newborns small for gestational age without a defined cause, and/or newborns with low birth weight, without a defined cause.

Exclusion criteria were patients without clinical conditions for collection, patients with asphyxia or neonatal sepsis, or patients whose mother used medication during pregnancy. The identification of patients was performed using the daily list of newborns. The inclusion and exclusion criteria of patients were verified by information from medical records and a standardized questionnaire was filled out.

After identifying eligible patients, the Informed Consent Form was applied. After consent, the patient was then submitted to blood collection, simultaneously to the collection of routine tests indicated by the assistant physician. Patients in the control group were selected after identification of repository samples by the laboratory, collected from newborns who met the inclusion criteria: full-term newborns, without associated underlying disease or attributed to possible known (congenital) infection, adequate for gestational age, without intrauterine growth restriction, whose mother did not present any underlying disease, in the prenatal or peripartum period (obstetric or placental), with an indication for laboratory tests by the assistant physician due to other diagnoses such as jaundice.

The definitions of the World Health Organization were used: a) Intrauterine Growth Restriction: when fetus does not reach the expected intrauterine growth for the sex and gestational age,

remaining below the 10th percentile on the growth curve¹⁴; b) Small for gestational age: those who born weighing less than the 10th percentile for gender and gestational age¹⁴; c) Low birth weight: newborn who born weighing less than 2,500 grams¹⁵; d) Premature newborn: one who is born before completing 37 weeks of gestation¹⁶.

To calculate the sample, a previous study by Oliveira et al.¹⁷ was considered, which identified 7.14% of viral infections in 70 placentas studied. In addition, possible losses associated with sample processing and storage were considered, with an estimate of 100 patients in each group.

A 2 ml blood sample from each patient included in the study was centrifuged, and the plasma was stored at -80°C until processing. Samples that were not viable or thawed were not processed. PCR for Cytomegalovirus was performed using the Nested PCR¹⁸ technique, the primers used were described by McIver et al.¹⁹ and were produced by IDT – Integrated DNA Technologies. The BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) was used to assess the sensitivity/specificity of the used primers. For DNA extraction, the Purelink Viral RNA/DNA Mini Kit (catalogue 12280050 – ThermoFisher Scientific) was used, following the manufacturer's recommendations. Samples for positive (ATG-73) and negative (ATG-126) control of Cytomegalovirus (CMV – Manufacturer Controllab) were also extracted.

In the first reaction, external primers (CMVOF and CMVOR) and the GoTaq Colorless Master Mix Kit (Catalog M7133 – Promega) were used in the following volumes: 5uL of ultrapure water, 10uL of HotStart, 1.5 uL of each primer and 2 uL of sample (final volume of 20 uL). The samples were then subjected to cycling (MX3500 thermocycler, GE Healthacare) according to the protocol adapted from McIver et al.¹⁹: 95°C for 5 minutes, 39 cycles (95°C for 45 seconds; 62°C for 1 minute and 30 seconds; 72°C for 1 minute and 30 seconds), 72°C for five minutes and 4°C (wait). In the second reaction, external primers (CMVIF and CMVIR), the final product of the first reaction and the GoTaq Colorless Master Mix Kit (catalog M7133 – Promega) were used, following the same volumes used in the first reaction. The samples were then subjected to cycling (thermocycler MX3500, GE Healthacare) according to the protocol adapted from McIver et al.¹⁹: 95°C for 5 minutes; 39 cycles (95°C for 45 seconds; 60°C for 1 minute; 72°C for 1 minute), 72°C for five minutes and 4°C (final wait). For the qualitative PCR result, 1% agarose gel electrophoresis was used.

The quantification of 45 cytokines expression levels in plasma was performed with the immunoassay kit: Milliplex MAP human high sensitivity T cell assay (HSTCMAG-28K - EMD

Millipore). The following analytes were evaluated: MIP-1alpha, SDF-1alpha, IL-27, LIF, IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-5, IP-10, IL-6, IL-7, IL- 8, IL-10, PIGF-1, Eotaxin, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-31, IL-1RA, SCF, RANTES, IFN-gamma, GM-CSF, TNF-alpha, HGF, MIP-1beta, IFN-alpha, MCP-1, IL-9, VEGF-D, TNF-beta, bNGF, EGF, BDNF, GRO-alpha, IL-1alpha, IL-23, IL-15, IL-18, IL-21, FGF-2, IL-22, PDGF-BB, VEGF-A in 96-well plates according to manufacturer's instructions. Plates were read using a Luminex 100/200 system. Acquisition between 8,000 and 15,000 events was established to discriminate any double events and to ensure that only single microparticles were measured. Approximately 50 microliters per assay were collected individually in each well, used later to generate the mean fluorescence intensity (MFI) for a given marker. Mean fluorescence intensities were converted to concentrations (pg/ml) using the equation derived from the standard scale of each analyte by Milliplex Analyst software. Each sample was measured in duplicate. All procedures and analyzes in peripheral blood were performed by the Molecular Laboratory of the INCT – MM.

Database and statistical analysis were performed with Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 19.0 (IBM, Armonk, NY). Clinical, obstetric, and neonatal data were considered in the analysis. Descriptive analysis was performed with frequency and percentage of categorical variables, mean and standard deviation of quantitative variables. Comparative analysis of variables between the case and control group and between newborns infected and not infected with Cytomegalovirus included the Chi-square or Fisher's test for categorical variables and Student's T test or Mann Whitney test for quantitative variables. Statistical significance was considered when $p < 0.05$.

The study was approved by the Research Ethics Committee of all hospitals involved and was carried out with the aid of a resource obtained by the Universal Notice FAPEMIG/2014 and through the Institutional Scientific Initiation Scholarship UFMG/FAPEMIG and UFMG/CNPq.

Results

Samples were collected from 213 newborns who met the inclusion criteria: 118 in the case group and 95 in the control group. During processing, 133 samples were excluded because they were considered unfeasible (coagulation, centrifugation with insufficient volume, delay in processing or that underwent thawing), resulting in 80 samples. After performing paired PCR

with negative and positive controls, PCR for cytomegalovirus and cytokine dosage were performed in 75 samples, 39 in the case group and 36 in the control group.

When comparing the group of 213 newborns initially selected with the group of 75 newborns whose samples were submitted to PCR and cytokine dosage, the only variable with statistical difference was prenatal care, with less chance to perform prenatal care in the group of 75 patients, (OR = 0.16 - 95% CI, 0.03 - 0.86). It is reiterated, however, that this difference was also observed between the case and control groups of the 213 patients initially selected.

The perinatal and clinical characteristics of the 75 selected patients are described in Table 1. There was no statistical difference when comparing maternal age, prenatal care, number of consultations, previous pregnancies, abortions, type of delivery or gender of the newborn. The mean number of ultrasounds performed during prenatal care was higher in the case group ($p < 0.001$). The investigation of congenital infections during prenatal care did not show any statistical difference between the two groups for HIV, Syphilis, Hepatitis C, Rubella or CMV. There is a greater number of tests in the case group for Toxoplasmosis ($p = 0.04$) and hepatitis B ($p < 0.001$). The variables gestational age, weight, length and the newborn's head circumference had lower means in the case group.

Table 1 – Perinatal and clinical characteristics of newborns, in case and control groups in which congenital CMV infection and cytokine profile were investigated, 2016 to 2020.

VARIABLE	Group		P	Odds ratio CI 95%
	Case n=39	Control n=36		
Maternal Age mean (sd)	25.86 (6.97)	26.15 (7.55)	0.87**	--
Prenatal Care Yes	36 (48.0%)	33 (44.0%)	0.91***	OR 1.25 CI 95% 0.26– 6.06
No	3 (4.0%)	3 (4.0%)		
Prenatal Consultations mean (sd)	6.08 (2.65)	6.91 (2.84)	0.19**	--
Pregnancies (including current) mean (sd)	1.46 (1.44)	1.03 (1.27)	0.17**	--
Abortions mean (sd)	0.31 (0.61)	0.22 (0.59)	0.54**	--
Ultrasounds mean (sd)	1.90 (1.42)	0.61 (0.59)	<0.001*	--
HIV Tests mean (sd)	1.82 (0.68)	2.0 (0.41)	0.14*	--
Syphilis Tests (VDRL or rapid test) mean (sd)	2.23 (0.90)	2.06 (0.58)	0.34*	--
Hepatitis B Tests				

mean (sd)	1.38 (0.59)	1.0 (0.33)	<0.001*	--
Hepatitis C Tests				
mean (sd)	0.15 (0.36)	0.03 (0.16)	0.06*	--
Toxoplasmosis Tests				
mean (sd)	1.26 (0.63)	1.00 (0.47)	0.04*	--
Rubella Tests				
mean (sd)	0.13 (0.33)	0.03 (0.16)	0.11*	--
CMV Tests				
mean (sd)	0.05 (0.22)	0.00 (0.00)	0.17*	--
Type of delivery				
Vaginal n (%)	36 (48.0%)	29 (38.7%)	0.10***	OR 1.09
Cesarean n (%)	3 (4.0%)	7 (9.3%)		CI 95% 0.2–5.78
Gestational Age				
mean (sd)	36.91 (2.63)	38.94 (1.25)	<0.001*	--
Gender				
Female	22 (29.3%)	13 (17.6%)	0.07***	OR 2.89
Male	17 (22.7%)	23 (30.7%)		CI 95% 0.68–12.20
Weight				
mean (sd)	2395.97 (439.58)	3327.89 (320.08)	<0.001**	--
Lenght				
mean (sd)	44.85 (2.80)	49.45 (1.53)	<0.001*	--
Head Circumference				
mean (sd)	31.79 (1.61)	34.43 (1.29)	<0.001**	--

Subtitle: sd – standard deviation; CMV – Cytomegalovirus.

*Mann-Whitney Test; **Student's T Test; ***Chi-square Pearson's Test.

PCR for CMV was positive in the peripheral blood of seven patients, resulting in an overall prevalence of 9%. In the control group, 3 (8%) patients were positive and, in the case group, 4 (10%), without statistical significance ($p = 0.77$) (Table 2).

Table 2 – Diagnosis of CMV infection in case and control groups of reference maternity hospitals in Belo Horizonte-MG, Brazil, 2016-2020.

Congenital CMV infection	Group		p
	Case n=39	Control n=36	
Yes	4 (5.3%)	3 (4.0%)	0.77***
No	35 (46.7%)	33 (44.0%)	Odds ratio 1.25 CI 95% 0.26 – 6.06

*Mann-Whitney Test; **Student's T Test; ***Chi-square Pearson's Test.

Perinatal, clinical characteristics and cytokine profile in newborns with and without congenital Cytomegalovirus infection

Two groups were considered of the 75 newborns in which CMV PCR and cytokine profiling were performed: CMV-infected patients (7 patients) and CMV-uninfected patients (68 patients).

Considering prenatal variables, only the number of tests for CMV showed a statistical difference, with a higher mean of tests in the group of newborns not infected with CMV ($p = 0.02$). The chance of the newborn being female was greater in the group of infected patients ($p = 0.03$). When considering only CMV-infected newborns ($n = 7$), one pregnant woman did not undergo ultrasound during prenatal care and 6 had no abnormalities in obstetric ultrasound. Serology for CMV was not collected from any pregnant woman. As for neonatal workup, no newborn was submitted to transfontanelar ultrasound and lumbar puncture, blood counts were collected from three patients and no changes were evidenced. Table 3 describes the perinatal and clinical characteristics of newborns with and without congenital CMV infection, and Table 4 describes the clinical characteristics of each infected newborn.

Table 3 – Perinatal and clinical characteristics of newborns with and without congenital CMV infection, reference maternity hospitals in Belo Horizonte-MG, Brazil, 2016-2020.

VARIABLE	Congenital CMV Infection		p	Odds ratio CI 95%
	YES n= 7	NO n= 68		
Maternal Age				
mean (sd)	23.00 (3.83)	26.33 (7.43)	0.34*	
Prenatal Care				
Yes	6 (8.0%)	63 (84.0%)	0.52***	OR 0.47
No	1 (1.3%)	5 (6.7%)		CI 95% 0.04–4.76
Prenatal consultations				
mean (sd)	5.17 (2.99)	6.59 (2.72)	0.22**	
Pregnancies (including current)				
mean (sd)	1.57 (1,13)	1.22 (1.40)	0.52**	
Abortions				
mean (sd)	0.71 (0.95)	0.22 (0.54)	0.06*	

Ultrasounds

mean (sd)	1.57 (1.13)	1.25 (1.29)	0.53**
-----------	-------------	-------------	--------

HIV Tests

mean (sd)	1.86 (0.37)	1.91 (0.59)	0.81**
-----------	-------------	-------------	--------

Syphilis Tests

(Rapid Test or VDRL)			
mean (sd)	2.29 (1.11)	2.13 (0.73)	0.33*

Hepatitis B Tests

mean (sd)	1.29 (0.75)	1.19 (0.49)	0.65**
-----------	-------------	-------------	--------

Hepatitis C Tests

mean (sd)	0.14 (0.37)	0.09 (0.28)	0.64**
-----------	-------------	-------------	--------

Toxoplasmosis Tests

mean (sd)	1.14 (0.69)	1.13 (0.57)	0.96**
-----------	-------------	-------------	--------

Rubella Tests

mean (sd)	00 (00)	0.09 (0.28)	0.08**
-----------	---------	-------------	--------

CMV Tests

mean (sd)	00 (00)	0.03 (0.17)	0.02**
-----------	---------	-------------	--------

Type of Delivery

Vaginal n (%)	7 (9.3%)	58 (77.3%)	0.27****	OR 1.12
Cesarean n (%)	00 (00%)	10 (13.3%)		CI 95% 1.02–1.21

Gestational Age

mean (sd)	37.58 (2.22)	37.92 (2.39)	0.71**
-----------	--------------	--------------	--------

Gender

Female n (%)	6 (8.0%)	29 (38.7%)	0.03****	OR 8.06
Male n (%)	1 (1.3%)	39 (52.0%)		CI 95% 0.92–71.42

Weight

mean (sd)	2849.86	2842.62	0.97**
	(591.59)	(611.90)	

Length

mean (sd)	48.07 (3.35)	46.96 (3.23)	0.39**	
Head circumference				
mean (sd)	33.25 (2.32)	33.03 (1.95)	0.78*	
Low Weight				
Yes	2 (2.7%)	23 (30.7%)	0.77***	OR 0.78
No	5 (6.7%)	45 (60.0%)		CI 95% 0.14–4.34
Complete blood count				
Yes n (%)	3(4.0%)	29 (38.7%)	0.99***	OR 1.00
No n (%)	4 (5.3%)	39 (52.0%)		CI 95% 0.20–4.78
Transfontanelar ultrasound				
Yes n (%)	0 (0%)	4 (5.3%)	0.51***	OR 1.10
No n (%)	7 (9.3%)	64 (85.3%)		CI 95% 1.02–1.19

Subtitle: sd – standard deviation; CMV- Cytomegalovirus

*Mann- Whitney Test; **Student's T Test; ***Chi-square Pearson's Test.

Table 4 - Clinical characteristics of newborns with confirmed Cytomegalovirus infection.

Patient	GA	Weight	Gender	Clinical characteristics
Control 1	38 + 3	2,960	Fem	Asymptomatic
Control 2	39 + 5	3,670	Male	Asymptomatic
Control 3	40 + 4	3,475	Fem	Asymptomatic
Case A	37 + 6	2,394	Fem	Low weight
Case B	35 + 3	2,670	Fem	Asymptomatic
Case C	36 + 5	2,815	Fem	Asymptomatic
Case D	34 + 3	1,965	Fem	Low weight and HC < 10th percentile

Subtitle: GA – gestational age; HC – head circumference.

The mean values of cytokines in pg/ml, by group, CMV-infected patients (n=7) and uninfected patients (n=68), are described in table 5. A higher dose of IL-10 was observed (p= 0.04), IFN alpha (p=0.02) and TNF beta (p=0.01), with statistical significance, in the group of infected patients.

Table 5 - Mean dosage of cytokines in the blood of newborns, groups with and without congenital CMV infection, 2016 to 2020.

Cytokines (pg/ml)	Group			p
	Total (n=75) mean (sd)	Case (n=7) mean (sd)	Control (n=68) mean (sd)	
MIP-1alpha	5.44 (0.52)	9.04 (12.011)	4.79 (6.91)	0.15**
SDF-1alpha	75.45 (7.59)	135.22 (142.91)	66.5 (56.77)	0.19*
IL-27	34.73 (71.91)	62.95 (69.09)	33.61 (38.17)	0.33*
LIF	11.04 (41.37)	12.45 (8.91)	11.14 (6.21)	0.61**
IL-1beta	18.63 (6.41)	29.92 (35.78)	18.12 (6.81)	0.92*
IL-2	22.2 (12.44)	20.65 (9.01)	23.16 (10.1)	0.52**
IL-4	39.82 (44.98)	87.36 (117.54)	36.34 (28.81)	0.34*
IL-5	83.39 (28.42)	87.72 (30.55)	85.33 (27.11)	0.82**
IP-10	45.04 (163.04)	251.17 (509.96)	23.83 (53.45)	0.46*
IL-6	25 (106.28)	28.57 (33.13)	26.05 (114.84)	0.95**
IL-7	0.36 (0.59)	0.89 (1.49)	0.32 (0.42)	0.85*
IL-8	11.06 (31.07)	26.88 (59.48)	7.96 (25.59)	0.24*
IL-10	2.94 (8.02)	9.3 (12.71)	2.43 (7.52)	0.04*
PIGF-1	26.18 (74.27)	29.34 (34.11)	23.24 (74.02)	0.83**
Eotaxin	13.42 (23.66)	19.74 (23.58)	12.58 (24.38)	0.46**
IL-12p70	4.31 (7.1)	12.19 (19.14)	3.69 (4.36)	0.89*
IL-13	2.81 (4.02)	6.04 (6.63)	2.57 (3.71)	0.17*
IL-17A	7.67 (6.33)	12.98 (15.96)	7.46 (4.42)	0.70*
IL-31	8.71 (17.19)	19.39 (30.14)	7.85 (15.76)	0.24*
IL-1RA	30418.26 (188143.08)	1231.4 (1713.8)	35535.44 (203862.82)	0.65**
SCF	5.82 (5.75)	10.4 (13.58)	5.1 (4.07)	0.40*
RANTES	202.8 (595.59)	441.86 (808.27)	169.92 (584.04)	0.26**
IFN-gamma	36.75 (63.18)	45.89 (48.07)	34.23 (62.55)	0.63**
GM-CSF	18.44 (25.02)	34.9 (52)	17.69 (21.28)	0.76*
TNF-alpha	67.42 (30.29)	57.53 (27.77)	70.23 (30.4)	0.29*
HGF	75.51 (126.75)	85.09 (60.41)	67.89 (124.28)	0.72**
MIP-1beta	28.25 (37.32)	38.13 (43.78)	26.18 (37.04)	0.42**
IFN-alpha	0.02 (0.13)	0.19 (0.43)	0 (0.04)	0.02**
MCP-1	66.5 (112.46)	113.3 (191.62)	58.51 (94.62)	0.46*
IL-9	4.49 (16.54)	21.6 (49.81)	2.97 (8.15)	0.75*
VEGF-D	6.26 (16.68)	12.77 (22.47)	5.28 (16.48)	0.27**
TNF-beta	1.58 (12.62)	17.46 (42.13)	0.05 (0.2)	0.01*
bNGF	43.5 (25.45)	52.23 (34.2)	42.9 (24.69)	0.36**
EGF	11.3 (12.37)	11.02 (6.75)	11.39 (13.08)	0.94**
BDNF	91.9 (430.09)	351.86 (900.66)	64.05 (369.49)	0.77*
GRO-alpha	9.42 (20.05)	31.67 (60.96)	7.23 (9.01)	0.25*

IL-1alpha	0.21 (0.81)	1.46 (2.5)	0.09 (0.22)	0.76*
IL-23	5.44 (47.36)	66.33 (98.57)	34.83 (40.25)	0.60*
IL-15	1417857.92 (9948135.84)	147499.15 (389860.68)	1642770.75 (10785608.23)	0.71**
IL-18	35.06 (59.14)	44.15 (52.11)	31.91 (56.8)	0.58**
IL-21	9.31 (33.80)	53.17 (96.87)	5.43 (16.88)	0.77*
FGF-2	9.17 (20.89)	31.11 (60.27)	6.73 (11.1)	0.44*
IL-22	22.51 (66.61)	117.46 (200.07)	13.56 (24.28)	0.68*
PDGF-BB	3128.2 (3,072.05)	4020.05 (3,030.35)	2952.51 (2,775.01)	0.33**
VEGF-A	75.21 (152.45)	160.13 (227.7)	64.47 (144.59)	0.34*

Legenda: *Teste U de Mann-Whitney; ** Teste-t.

Discussion

In this study, the overall prevalence of congenital CMV was 9.0% (7/75), which is higher than that reported in literature. The CMV prevalence ranges from 0.2% to 2.4% in different countries and is more frequent in regions with lower socioeconomic conditions^{5,7}. A study by Santos et al.²⁰ found a prevalence of 6.8% for congenital CMV infection in newborn infants at the same institution.

When comparing case (n=39) and control (n=36) groups, a higher number of screening for hepatitis B and toxoplasmosis in the case group was observed. This difference can be attributed to different antenatal protocols²¹; however, it was not observed in the general group studied (n=213).

Several authors have studied the importance of congenital CMV in prematurity, low birth weight, and/or small-for-gestational-age infants with a variable prevalence, differing in country population and method of diagnosing^{2,3,7-10}. The highest prevalence was described by Panhani and Heinonen¹⁰, who identified four infections (4.8%) in preterm newborns with less than 34 weeks among 83 newborns. Urine viral culture was used for the diagnosis of congenital infections and is considered as the gold standard, allowing for additional diagnoses. Additionally, the small sample size could have influenced the results. Turner et al.⁷ also used urine viral culture to investigate congenital cytomegalovirus infections, but on the other hand, had a prevalence of 0.39% (18/4594) in preterm newborns with very low birth weight.

In Brazil, Yamamoto et al.⁵ investigated CMV infection in preterm and full-term newborns in a population of similar socioeconomic status. The authors performed PCR and urine culture, which are the preferred specimens for diagnosis, due to their high sensitivity and specificity²². They identified a prevalence of 2.1% in preterm newborns and 1.8% in full-term newborns, without statistical difference. In this study the prevalence of CMV infection in case group was 10% and in control group 8%, higher than previous studies.

Although this sample has a higher prevalence of congenital CMV than that described in literature, one must consider the possibility that the diagnosis of congenital CMV infection through peripheral blood has underestimated the number of infections. The use of peripheral blood to perform PCR for diagnosis^{2,8,23} and follow-up^{13, 24} of newborns with congenital infections have already been described, however infected newborns may not present viremia^{9,23}, decreasing the sensitivity of the method.

The higher prevalence of congenital CMV infection found in this study can be attributed to the socioeconomic level of population. In Brazil, Mussi-Pinhata et al.²⁵ found a seroprevalence of 97% among low-income and urban pregnant women. Cytomegalovirus can be transmitted to the fetus when a pregnant woman has a primary infection, reactivation, or reinfection^{26,27}.

At the present study, the initial proposal to collect urine and blood to perform PCR was abandoned due to difficulties in obtaining urine samples before the newborn discharge. Still, difficulties in the collection and transport of blood samples were highlighted, which led to the exclusion of some patient samples. Considering the importance of congenital CMV infection, the possibility of neurological sequelae and difficulties to establish diagnose screening, new diagnostic methods are needed. Ross et al.²⁸ studied the diagnosis of congenital CMV through urine PCR on cotton balls and Koyano et al.²⁹ studied the diagnosis through urine PCR on filter paper; however, neither technique was validated.

In this study, the cytokine profile revealed the highest dosage of cytokines IFN- α , TNF- β , and IL-10 in the CMV-positive group compared to the non-CMV group. Chen et al.³⁰ observed a significant increase in the IL-33 levels in newborn patients with congenital CMV infection, when compared to patients without infection. Numazaki et al.³¹ observed high levels of IFN- γ

and TNF- α in two newborns with symptomatic congenital CMV compared to two asymptomatic newborns. Furthermore, the frequency of CMV-specific CD4+ T-lymphocytes was higher in symptomatic patients than in healthy children, immune to CMV, and without urinary viral excretion. Although the association between cytokine dosage and congenital infections seems informative, studies on this topic are scarce.

The presence of proinflammatory cytokines in children with positive CMV-PCR must be clarified; additionally, these children should be followed-up to define consequences in children exposed to inflammation during fetal life. Infants exposed to microorganisms or other stimuli can present with fetal inflammatory response syndrome and have a high chance of presenting with early onset neonatal sepsis, intraventricular hemorrhage, periventricular leukomalacia, and death³². Some complications may emerge as sequelae, including bronchopulmonary dysplasia, neurodevelopmental disorders, retinopathy of prematurity, and hearing loss, worsening the development and adaptability of these children³². Potential pharmacological interventions might drive the need to measure and minimize the impact of having the virus and a proinflammatory profile.

This is a preliminary finding regarding newborns small for gestational age, of low birth weight, or of preterm birth without any cause; however, cytokine profile found in infected patients can help to define the prognosis and potential treatments with immunomodulatory therapies. CMV-infected patients present with prolonged viral replication¹¹⁻¹³, and the present data demonstrate that infants present active replication and a chronic inflammatory reaction.

Conclusion

Cytomegalovirus was highly prevalent in a sample of tested newborns. Congenital infection by cytomegalovirus resulted in modifications of inflammatory response, with a significant increase in the cytokines IFN- α , TNF- β , and IL-10.

References

1. Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. *Clin Perinatol*. 2015;42(1):77-103, viii.
2. Balcells C, Botet F, Gayete S, Marcos M, Dorronsoro I, de Alba C, et al. Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. *J Perinat Med*. 2016;44(5):485-90.
3. Lorenzoni F, Lunardi S, Liumbruno A, Ferri G, Madrigali V, Fiorentini E, et al. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection in preterm and small for gestational age infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014;27(15):1589-93.
4. Espiritu MM, Bailey S, Wachtel EV, Mally PV. Utility of routine urine CMV PCR and total serum IgM testing of small for gestational age infants: a single center review. *J Perinat Med*. 2018;46(1):81-6.
5. Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM, Cristina P, Pinto G, Moraes Figueiredo LT, Jorge SM. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(2):188-92.
6. Yamamoto AY, Castellucci RA, Aragon DC, Mussi-Pinhata MM. Early high CMV seroprevalence in pregnant women from a population with a high rate of congenital infection. *Epidemiol Infect*. 2013;141(10):2187-91.
7. Turner KM, Lee HC, Boppana SB, Carlo WA, Randolph DA. Incidence and impact of CMV infection in very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2014;133(3):e609-15.
8. Álvarez Domínguez E, Figueras Aloy J, Botet Mussons F, Marcos Maeso MA, Pérez Fernández JM. [Screening for cytomegalovirus infection in very low birth weight infants]. *An Pediatr (Barc)*. 2013;79(1):3-9.
9. Vaudry W, Rosychuk RJ, Lee BE, Cheung PY, Pang X, Preiksaitis JK. Congenital cytomegalovirus infection in high-risk Canadian infants: Report of a pilot screening study. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2010;21(1):e12-9.

10. Panhani S, Heinonen KM. Screening for congenital cytomegalovirus infection among preterm infants born before the 34th gestational week in Finland. *Scand J Infect Dis.* 1994;26(4):375-8.
11. Pass RF, Stagno S, Britt WJ, Alford CA. Specific cell-mediated immunity and the natural history of congenital infection with cytomegalovirus. *J Infect Dis.* 1983;148(6):953-61.
12. Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, Griesser C, Sellers S, Llorente A, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. Congenital CMV Longitudinal Study Group. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19(6):505-10.
13. Lanari M, Lazzarotto T, Venturi V, Papa I, Gabrielli L, Guerra B, et al. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics.* 2006;117(1):e76-83.
14. WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. *Physical status : the use and interpretation of anthropometry : report of a WHO Expert Committee.* Geneva: World Health Organization; 1995. x, 452 pages p.
15. World Health Organization. *International statistical classification of diseases and related health problems.* 10th revision, 2nd edition. ed. Geneva: World Health Organization; 2004.
16. Althabe F, Howson CP, Kinney M, Lawn J, World Health Organization. *Born too soon : the global action report on preterm birth.* Geneva, Switzerland: World Health Organization,; 2012. Available from: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon-report.pdf Available from: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/preterm_birth_report/en/index.html.
17. Oliveira GM, Pascoal-Xavier MA, Moreira DR, Guimarães VS, Aguiar RALP, Miranda DM, et al. Detection of cytomegalovirus, herpes virus simplex, and parvovirus b19 in spontaneous abortion placentas. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;32(5):768-75.

18. Green MR, Sambrook J. Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harb Protoc.* 2019;2019(2).
19. McIver CJ, Jacques CF, Chow SS, Munro SC, Scott GM, Roberts JA, et al. Development of multiplex PCRs for detection of common viral pathogens and agents of congenital infections. *J Clin Microbiol.* 2005;43(10):5102-10.
20. Santos DV, Souza MM, Gonçalves SH, Cotta AC, Melo LA, Andrade GM, et al. Congenital cytomegalovirus infection in a neonatal intensive care unit in Brazil evaluated by PCR and association with perinatal aspects. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000;42(3):129-32.
21. Lausman A, Kingdom J, COMMITTEE MFM. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management. *J Obstet Gynaecol Can.* 2013;35(8):741-8.
22. Nelson CT, Ista AS, Wilkerson MK, Demmler GJ. PCR detection of cytomegalovirus DNA in serum as a diagnostic test for congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol.* 1995;33(12):3317-8.
23. Marsico C, Aban I, Kuo H, James SH, Sanchez PJ, Ahmed A, et al. Blood Viral Load in Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis.* 2019;219(9):1398-406.
24. de Vries JJ, Barbi M, Binda S, Claas EC. Extraction of DNA from dried blood in the diagnosis of congenital CMV infection. *Methods Mol Biol.* 2012;903:169-75.
25. Dollard SC, Dreon M, Hernandez-Alvarado N, Amin MM, Wong P, Lanzieri TM, et al. Sensitivity of Dried Blood Spot Testing for Detection of Congenital Cytomegalovirus Infection. *JAMA Pediatr.* 2021;175(3):e205441.
26. Luck SE, Wieringa JW, Blázquez-Gamero D, Henneke P, Schuster K, Butler K, et al. Congenital Cytomegalovirus: A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management. *Pediatr Infect Dis J.* 2017;36(12):1205-13.
27. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Aragon DC, Duarte G, Fowler KB, Boppana S, et al. Seroconversion for Cytomegalovirus Infection During Pregnancy and Fetal Infection

- in a Highly Seropositive Population: "The BraCHS Study". *J Infect Dis.* 2018;218(8):1200-4.
28. de Vries JJ, van Zwet EW, Dekker FW, Kroes AC, Verkerk PH, Vossen AC. The apparent paradox of maternal seropositivity as a risk factor for congenital cytomegalovirus infection: a population-based prediction model. *Rev Med Virol.* 2013;23(4):241-9.
 29. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY. Natural History of Congenital Cytomegalovirus Infection in Highly Seropositive Populations. *J Infect Dis.* 2020;221(Suppl 1):S15-S22.
 30. Ross SA, Ahmed A, Palmer AL, Michaels MG, Sánchez PJ, Stewart A, et al. Urine Collection Method for the Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(8):903-5.
 31. Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Ito Y, et al. Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multicentre study. *BMJ Open.* 2011;1(1):e000118.
 32. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1843(11):2563-82.
 33. Chen Y, Qian J. Increased serum levels of IL-33 and soluble ST2 in neonates with human cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 2018;90(8):1383-8.
 34. Numazaki K, Fujikawa T, Asanuma H. Immunological evaluation and clinical aspects of children with congenital cytomegalovirus infection. *Congenit Anom (Kyoto).* 2002;42(3):181-6.
 35. Machado JR, Soave DF, da Silva MV, de Menezes LB, Etchebehere RM, Monteiro ML, et al. Neonatal sepsis and inflammatory mediators. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:269681.
 36. Boskabadi H, Zakerihamidi M. Evaluate the diagnosis of neonatal sepsis by measuring interleukins: A systematic review. *Pediatr Neonatol.* 2018;59(4):329-38.

37. Kasztelewicz B, Piotrowska E, Tołłoczko J, Borszewska-Kornacka MK, Gregorek H, Dzierżanowska-Fangrat K. Assessment of interleukin-17A, C5a and RANTES for early diagnosis of neonatal sepsis - a preliminary study. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(4):376-82.
38. Ng PC, Li K, Leung TF, Wong RP, Li G, Chui KM, et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. *Clin Chem.* 2006;52(6):1181-9.
39. Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997;77(3):F221-7.
40. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(12):1646-59.
41. Klimova RR, Malinovskaia VV, Guseva TS, Parshina OV, Getiia EG, Degtiareva MV, et al. [Impact of herpesvirus infections on the level of proinflammatory cytokines in premature neonatal infants]. *Vopr Virusol.* 2011;56(4):23-6.
42. Caffrey Osvald E, Prentice P. NICE clinical guideline: antibiotics for the prevention and treatment of early-onset neonatal infection. *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2014;99(3):98-100.
43. Carneiro AC, Machado AS, Béla SR, Costa JG, Andrade GM, Vasconcelos-Santos DV, et al. Cytokine Signatures Associated With Early Onset, Active Lesions and Late Cicatricial Events of Retinochoroidal Commitment in Infants With Congenital Toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 2016;213(12):1962-70.
44. de Araújo TE, Dos Santos LI, Gomes AO, Carneiro ACAV, Machado AS, Coelho-Dos-Reis JG, et al. Putative biomarkers for early diagnosis and prognosis of congenital ocular toxoplasmosis. *Sci Rep.* 2020;10(1):16757.

5.2 Artigo Original 2

ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL DE RECÉM-NASCIDOS COM BAIXO PESO AO NASCIMENTO, PEQUENOS PARA A IDADE GESTACIONAL OU PREMATUROS: UM ESTUDO CASO-CONTROLE

RESUMO

Objetivo: descrever a assistência pré-natal de mães de recém-nascidos prematuros e/ou com baixo peso ao nascimento e/ou pequenos para a idade gestacional sem causa definida e comparar com recém-nascidos a termo sem fatores de risco.

Método: estudo transversal, realizado em Belo Horizonte, no período de 2016 a 2020. Recém-nascidos prematuros, e/ou recém-nascidos pequenos para a idade gestacional, e/ou recém-nascidos com baixo peso ao nascimento foram incluídos no grupo caso. No grupo controle foram incluídos recém-nascidos a termo, com idade gestacional adequada e sem crescimento intrauterino restrito.

Resultados: Foram selecionados 213 recém-nascidos, 118 no grupo caso e 95 no grupo controle. As mães dos pacientes do grupo controle realizaram maior número de consultas ($p < 0,001$), maior média de testagens para HIV ($p < 0,001$) e sífilis ($p < 0,001$) durante o pré-natal. As mães dos pacientes do grupo caso realizaram maior média de exames de ultrassonografia ($p < 0,001$) e testagem para Hepatite C ($p < 0,001$) durante o pré-natal. O parto vaginal foi mais frequente no grupo caso ($p < 0,001$). A realização de Ultrassom Transfontanela foi mais frequente no grupo caso ($p < 0,001$), já a realização de hemograma no recém-nascido foi mais frequente no grupo controle ($p < 0,001$).

Conclusão: Esse estudo não estabelece associação entre a qualidade da assistência pré-natal e os desfechos prematuridade, baixo peso ou peso inadequado para a idade gestacional, no entanto, observa-se que o acompanhamento durante a gravidez ainda não ocorre como preconizado pelo Ministério da Saúde. Entender as causas das limitações da assistência pré-natal pode auxiliar na elaboração de medidas públicas com o objetivo de adequar o acompanhamento durante a gestação.

Palavras chave: Cuidado pré-natal; Retardo do crescimento fetal; Recém-nascido de baixo peso; Recém-nascido pequeno para a idade gestacional; Recém-nascido prematuro.

Introdução

O acompanhamento pré-natal é definido como o cuidado a gestantes com o objetivo de garantir as melhores condições de saúde para o recém-nascido e para a mãe¹. No Brasil, o Programa de Humanização no Pré-Natal e Nascimento foi implantado no ano de 2000 e foi a primeira diretriz nacional de assistência pré-natal que estabeleceu número de consultas e exames mínimos durante a gestação². Desde então, as novas evidências possibilitaram o aperfeiçoamento e atualização das recomendações nacionais de assistência à gestante e ao recém-nascido. No entanto, estudos apontam que nem todas as gestantes brasileiras possuem acesso a pré-natal adequado³⁻⁵.

Sabe-se que a assistência pré-natal possibilita identificar fatores de risco, prevenir e tratar as doenças da gravidez, resultando em melhor desfecho materno e fetal¹. O acompanhamento inadequado durante o pré-natal está associado a desfechos como óbito materno, neonatal, prematuridade e baixo peso ao nascer^{6, 7}. No Brasil, o Ministério da Saúde⁸, preconiza o início do pré-natal no primeiro trimestre, ainda, todas as gestantes devem ter acesso a no mínimo seis consultas. Nesse contexto, entender a associação da adequação do pré-natal nos pacientes com esses desfechos pode ajudar no planejamento de medidas públicas.

O objetivo desse estudo é descrever a assistência pré-natal de mães de recém-nascidos prematuros e/ou com baixo peso ao nascimento e/ou pequenos para a idade gestacional ou prematuros sem causa definida e comparar com recém-nascidos a termo sem fatores de risco.

Métodos

Este estudo faz parte de estudo maior em que foi investigada a frequência da infecção congênita por Citomegalovírus em pacientes pequenos para a idade gestacional, prematuros ou com baixo peso. Trata-se de estudo transversal, realizado em Belo Horizonte, estado

brasileiro de Minas Gerais, Brasil, no período de 2016 a 2020. Os recém-nascidos foram captados em quatro maternidades de referência: Hospital das Clínicas da UFMG, Maternidade Odete Valadares - FHEMIG, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves.

Em cada hospital foi definido o pesquisador responsável pela identificação dos pacientes que preenchem critério de inclusão no grupo caso: recém-nascidos prematuros, sem causa aparente, e/ou recém-nascidos pequenos para a idade gestacional sem causa definida, e/ou recém-nascidos com baixo peso ao nascimento, sem causa definida.

Foram excluídos os recém-nascidos \leq de 28 semanas ou 1.000g, com asfixia, sepse neonatal ou outras comorbidades e pacientes cuja mãe teve complicação obstétrica, periparto ou usou medicação durante a gravidez.

A identificação dos pacientes foi realizada pela lista diária de recém-nascidos. Os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes foram verificados por informações de prontuários e foi preenchido questionário padronizado. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi aplicado para todos os pacientes incluídos.

Para o grupo controle foram selecionados recém-nascidos a termo, que nasceram no mesmo período do estudo sem doença de base associada ou atribuída a possível infecção (congênita) conhecida, adequados para a idade gestacional, sem crescimento intrauterino restrito, cuja mãe não apresentou comorbidades, no pré-natal ou periparto (obstétricas ou placentárias).

Foram utilizadas as definições da Organização Mundial de Saúde: a) Recém-nascido prematuro: aquele que nasce antes de completar 37 semanas de gestação⁹; b) Recém-nascidos pequeno para a idade gestacional: aqueles que nascem com peso abaixo do percentil 10th para o sexo e idade gestacional¹⁰; c) Recém-nascido com baixo peso: aquele que nasce com peso abaixo de 2.500 gramas¹¹; d) Crescimento Intrauterino Restrito: quando o feto não atinge o crescimento intraútero esperado para o sexo e idade gestacional, permanecendo abaixo do percentil 10th na curva de crescimento¹⁰.

O banco de dados e análise estatística foram realizados com *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 19.0 (IBM, Armonk, NY). Dados clínicos, obstétricos e neonatais foram considerados na análise. A análise descritiva foi realizada com frequência e percentual de variáveis categóricas, média e desvio padrão de variáveis quantitativas. A análise comparativa

das variáveis entre o grupo caso e controle incluiu Qui-quadrado ou Teste de Fisher para variáveis categóricas e Teste T de *Student* ou Mann Whitney para variáveis quantitativas. Significância estatística foi considerada $p < 0,05$.

O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) de todos os hospitais envolvidos e foi realizado com auxílio de recurso obtido pelo Edital Universal FAPEMIG/2014 e através de Bolsa Institucional de Iniciação Científica UFMG/FAPEMIG e UFMG/CNPq.

Resultados

Neste estudo, foram incluídos 213 recém-nascidos, com 118 no grupo caso e 95 no grupo controle. A Tabela 1 compara as características perinatais e clínicas de todos recém-nascidos incluídos no estudo, em geral e por grupo. Durante o pré-natal, 205 (96,2%) gestantes foram acompanhadas, 140 (65,7%) delas iniciaram o pré-natal no primeiro trimestre. No grupo controle, 66 (69,4%) gestantes iniciaram o pré-natal no primeiro trimestre, no grupo caso 74 (62,7%). Dentre as 213 gestantes, apenas 2 (0,9%) relataram história prévia de prematuridade. O acompanhamento ultrassonográfico foi realizado por 161 (75,6%) gestantes, dessas, 54 (25,4%) realizaram 2 ou mais exames, 7 recém-nascidos tiveram o diagnóstico de CIUR no pré-natal.

Em relação à testagem para as infecções congênicas, o exame de HIV foi realizado em todas as gestantes, 47 (22,1%) realizaram três ou mais exames. A pesquisa de Sífilis também foi realizada em todas as gestantes, 57 (26,8%) realizaram três ou mais exames. A Hepatite B foi investigada em 205 (96,2%) gestantes, 44 (20,7%) realizaram 2 ou mais exames, 2 realizaram anti-HBS. Já a Hepatite C foi testada em 13 (6,1%) gestantes, 13 (6,1%) foram investigadas para Rubéola e 3 dessas eram susceptíveis e 10 eram imunes. O Citomegalovírus foi investigado em 10 (4,7%) gestantes e todas foram consideradas imunes à doença. Toxoplasmose foi investigada em 197 (92,5%) gestantes e 125 (58,7%) delas eram susceptíveis e 72 (33,8%) foram consideradas imunes. Nenhuma relatou história prévia de infecção ou foi investigada para Herpes Simples. O número médio de cada exame realizado no pré-natal encontra-se na Tabela 1.

Dentre os 213 recém-nascidos, 100 (46,9%) foram do sexo feminino. O parto vaginal foi o escolhido em 178 (83,6%) gestantes, com idade gestacional média foi de 37,62 ($\pm 2,77$)

semanas, sendo 69 (32,4%) prematuros. O peso médio dos recém-nascidos foi de 2737,07 (\pm 618,01) gramas e 50 (23,5%) recém-nascidos foram considerados pequenos para a idade gestacional e 82 (38,5%) nasceram com baixo peso.

Após o nascimento, foi realizada propedêutica de alguns recém-nascidos (Tabela 1), os principais achados do hemograma foram: anemia, policitemia, plaquetopenia, plaquetose, leucopenia e leucocitose. Apenas um recém-nascido apresentou ultrassom transfontanela alterado, com o diagnóstico de hemorragia peri-intraventricular, um paciente foi submetido a punção lombar que não apresentou alterações.

Quando comparamos o grupo caso (n=118) com o grupo controle (n=95), observamos que o grupo controle realizou maior número de consultas ($p<0,001$), testagens para HIV ($p<0,001$), e Sífilis ($p<0,001$) no pré-natal. As gestantes do grupo caso apresentaram maior número de gestações ($p=0,01$) e testagem para infecções que não fazem rotina do pré-natal como Hepatite C ($p<0,001$), Rubéola ($p=0,02$) e CMV ($p=0,02$). Os recém-nascidos do grupo caso apresentaram maior chance de ser do sexo feminino ($p<0,001$) e de realizar USTF após o nascimento ($p<0,001$). A idade gestacional, os parâmetros antropométricos (peso, comprimento e estatura) e a realização de hemograma no recém-nascido apresentaram diferença estatística entre os grupos.

Tabela 1 – Características perinatais e clínicas dos recém-nascidos, geral e por grupo estudado, 2016 a 2020.

VARIÁVEL	Grupo			p	Odds ratio IC 95%
	Total n= 213	Caso n= 118	Controle n= 95		
Idade materna					
média (dp)	26,59 (9,01)	25,80 (7,38)	26,67 (7,30)	0,41**	--
Fez pré-natal					
Sim	205 (96,2%)	114 (53,5%)	91 (42,7%)	0,75***	OR 1,25
Não	8 (3,8%)	4 (1,9%)	4 (1,9%)		IC95% 0,30–0,14
Consultas pré-natal					
média (dp)	6,75 (2,58)	6,20 (2,51)	7,41 (2,53)	<0,001**	--
Gestações (inclui a atual)					
média (dp)	1,32 (1,54)	1,58 (1,75)	1,0 (1,17)	0,01*	--

Abortos					
média (dp)	0,26 (0,72)	0,35 (0,87)	0,16 (0,46)	0,08*	--
Ultrassonografias					
média (dp)	1,18 (1,04)	1,51 (1,18)	0,77 (0,62)	<0,001*	--
Testagens HIV					
média (dp)	2,04 (0,68)	1,92 (0,67)	2,19 (0,67)	<0,001**	--
Testagens Sífilis					
(VDRL ou Teste rápido)					
média (dp)	2,25 (0,78)	2,2 (0,77)	2,29 (0,81)	<0,001*	--
Testagens Hepatite B					
média (dp)	1,19 (0,52)	1,19 (0,50)	1,19 (0,55)	0,96**	--
Testagens Hepatite C					
média (dp)	0,06 (0,24)	0,10 (0,30)	0,01 (0,10)	<0,001*	--
Testagens					
Toxoplasmose					
média (dp)	1,15 (0,52)	1,21 (0,50)	1,07 (0,55)	0,05**	--
Testagens Rubéola					
média (dp)	0,06 (0,24)	0,09 (0,29)	0,02 (0,14)	0,02*	--
Testagens CMV					
média (dp)	0,05 (0,21)	0,08 (0,26)	0,01 (0,10)	0,02*	--
Tipo de parto					
Vaginal n (%)	178 (83,6%)	109 (51,2%)	69 (32,4%)	<0,001***	OR 4,56
Cesárea n (%)	35 (16,4%)	9 (4,2%)	26 (12,2%)		IC95% 2,0–0,31
Idade gestacional					
média (dp)	37,62 (2,77)	36,35 (3,03)	39,20 (1,17)	<0,001*	--
Sexo					
Feminino	100 (46,9%)	65 (30,5%)	35 (16,4%)	<0,001***	OR 2,10
Masculino	113 (53,1%)	53 (24,9%)	60 (28,2%)		IC95% 1,21–3,65
Peso ao nascimento					
média (dp)	2737,07 (618,01)	2312,63 (451,63)	3264,27 (316,97)	<0,001*	--
Comprimento					
média (dp)	46,48 (3,45)	44,52 (3,18)	48,93 (1,84)	<0,001*	--
Perímetro cefálico					
média (dp)	32,88 (2,06)	31,73 (1,88)	34,30 (1,20)	<0,001*	--
Realização de HMG					
Sim n (%)	91 (42,7%)	39 (18,3%)	52 (24,4%)	<0,001***	OR 0,40
Não n (%)	122 (57,3%)	79 (37,1%)	43 (20,2%)		IC95% 0,23–0,71
Realização de USTF					
Sim n (%)	15 (7,0%)	14 (6,6%)	1 (0,5%)	<0,001***	OR 12,65
Não n (%)					

198 (93,0%) 104 (48,8%) 94 (44,1%)

IC95% 1,63–100

 Legenda: RN – recém-nascido; dp – desvio padrão; USTF – Ultrassom transfontanela; CMV- Citomegalovírus; HMG -hemograma
*Teste U de Mann-Whitney; **Teste-t; ***Teste X² de Pearson.

Discussão

O acompanhamento precoce e adequado das gestantes permite o diagnóstico e o tratamento de afecções características do pré-natal, reduzindo a prematuridade e, conseqüentemente, as mortalidades neonatal e infantil¹². O crescimento intrauterino restrito e o baixo peso ao nascimento, apresentam maior prevalência em países subdesenvolvidos e são desfechos comuns quando não há pré-natal adequado^{6, 13, 14}.

De acordo com o Ministério da Saúde⁸, o acompanhamento deve ser iniciado no primeiro trimestre e todas as gestantes devem ter acesso a no mínimo seis consultas. Observa-se que apesar de 96,2% das gestantes estarem inseridas no pré-natal, apenas 140 (65,7%) iniciaram o acompanhamento no 1º trimestre, por outro lado, a média do número de consultas foi adequada nos dois grupos. Apesar de não ser obrigatória a realização de ultrassonografia, a maioria das gestantes foi submetida ao exame.

A investigação para HIV e Sífilis deve ser realizada no primeiro e terceiro trimestres e na hora do parto, totalizando três exames durante o pré-natal. Para prevenção da transmissão vertical da Hepatite B, recomenda-se realizar a investigação no primeiro trimestre com HbsAg e atualizar a vacinação, caso necessário. A abordagem no parto dependerá da avaliação do esquema vacinal e da sorologia Anti-HBS^{14,15}. A sorologia para Toxoplasmose também deve ser solicitada no primeiro trimestre, sendo recomendado novos exames apenas para pacientes susceptíveis, idealmente a cada mês. Até 2018 a triagem era realizada pelo Programa de Controle de Toxoplasmose Congênita do Estado de Minas Gerais¹⁵ e passa a ser recomendado pelo Ministério da Saúde desde 2020¹⁶. Neste estudo, apesar de todas as gestantes terem sido investigadas, observa-se que em média, as gestantes realizaram menos exames para HIV e para Sífilis do que o recomendado^{8, 17}. A Hepatite B foi investigada em quase todas as gestantes, porém a avaliação do cartão vacinal não é habitualmente relatada no prontuário pela equipe e o anti-HBS foi solicitado para apenas duas gestantes. Durante o pré-natal, a triagem e o diagnóstico de infecção por HIV, Sífilis e Toxoplasmose, possibilitam o tratamento durante a gestação, com redução da transmissão vertical^{17, 18}.

A Toxoplasmose foi investigada em 92,5% das gestantes, 125 (58,7%) susceptíveis e 72 (33,8%) imunes. Baseado no elevado número de gestantes susceptíveis para Toxoplasmose e a média de 1,15 (DP=0,52) exames por paciente, pode-se considerar que nem todas as gestantes susceptíveis realizaram uma segunda testagem no pré-natal, como recomendado⁸. Nos anos de 2004 e 2005, o estudo de Carellos et al.¹⁹ encontrou soroprevalência para toxoplasmose de 56,3% em pacientes da rede pública de Belo Horizonte, contrastando com a soroprevalência de 33,8% encontrada. Apesar de se tratar de populações que provavelmente apresentam perfil socioeconômico parecido, a menor soroprevalência pode ser atribuída ao tamanho da amostra ou a uma mudança no perfil sorológico dessas pacientes.

Quando comparamos os grupos caso (n=118) e controle (n=95), a maior frequência de testagem para as infecções congênitas que não fazem parte da rotina do pré-natal (Hepatite C, Rubéola e CMV), realização de ultrassom obstétrico e de realização de USTF após o nascimento pode ser atribuída à investigação, de acordo com os protocolos institucionais, para pacientes prematuros, pequenos para a idade gestacional, com baixo peso ou com diagnóstico de CIUR. O maior número de consultas e a maior frequência de testagem para HIV e Sífilis nos pacientes do grupo controle pode ser atribuída ao fato de esses pacientes terem nascido a termo, o que possibilita maior número de consultas e a triagem do terceiro trimestre, recomendada pelo Ministério da Saúde^{8, 17}. Por outro lado, o maior número de consultas no grupo controle pode refletir um melhor acompanhamento durante o pré-natal. Em 2016, a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou manual recomendando no mínimo oito consultas de pré-natal, com o objetivo de reduzir a mortalidade perinatal e melhorar o cuidado com a gestante¹.

Há tendência para a prematuridade quando a mulher é multípara, principalmente com mais de cinco gestações²⁰. No entanto, a média de gestações no grupo caso foi de 1,58. A chance de o parto ser vaginal foi maior no grupo caso, o que pode ser atribuído ao critério de seleção, que pode incluir os recém-nascidos com trabalho de parto prematuro sem causa nesse grupo, uma vez que casos de mães com comorbidades e indicação de cesárea foram excluídos do estudo.

Em relação ao recém-nascido, a diferença encontrada na idade gestacional e nos parâmetros antropométricos (peso, comprimento e estatura) pode ser atribuída aos critérios de seleção dos pacientes. Quanto a propedêutica realizada para o recém-nascido, além do USTF, observou-se diferença na realização de hemograma entre o grupo caso e controle. No entanto, maior número de hemogramas foi realizado no grupo controle, uma vez que foi utilizada amostra de

repositório de recém-nascidos a termo sem comorbidades e que realizaram coleta para outros diagnósticos como icterícia.

Dentre as limitações, considera-se que este estudo faz parte de estudo maior em que foi investigada a frequência da infecção congênita por Citomegalovírus em pacientes pequenos para a idade gestacional, prematuros ou com baixo peso comparados a recém-nascidos a termo sem comorbidades. Um estudo de coorte com inclusão de gestantes ao longo do pré-natal, cujo desfecho avaliado fosse a prematuridade e/ ou recém-nascidos pequenos para a idade gestacional e baixo peso, poderia ampliar a avaliação de variáveis associadas a qualidade da assistência pré-natal.

Apesar de esse estudo não estabelecer associação entre a qualidade da assistência pré-natal e os desfechos prematuridade, baixo peso ou peso inadequado para a idade gestacional, observa-se que o acompanhamento durante a gravidez ainda não ocorre como preconizado pelo Ministério da Saúde. Ainda, o acompanhamento preconizado pela OMS com 8 consultas durante o pré-natal pode resultar em melhor desfecho neonatal. Entender as causas das limitações da assistência pré-natal pode auxiliar na elaboração de medidas públicas com o objetivo de adequar o acompanhamento durante a gestação.

Conclusão

Embora as gestantes estudadas tenham acesso ao pré-natal na rede pública, com inserção precoce em grande parte dos casos, observamos que o acompanhamento está aquém do mínimo estabelecido pelo Ministério da Saúde.

Assim, apesar de o crescimento intrauterino restrito, baixo peso e prematuridade não terem sido associados ao pré-natal inadequado, a melhoria do acompanhamento pode repercutir na melhoria das mortalidades materna e neonatal.

Referências

1. World Health Organization (WHO). Recommendations on Antenatal Care for a Positive Pregnancy Experience. Geneva, 2016.

2. CRUZ RDSBLC, CAMINHA MDFC, FILHO MB. Aspectos Históricos, Conceituais e Organizativos do Pré-natal. Rev. Bras. Ciênc. Saúde. 2014; 18(1): 87-94.
3. T C, MFG M, JD S, MTB T, CM C, LM C. Monitoring the prenatal care process among users of the Unified Health Care System in a city of the Brazilian Southeast. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2010; 32(11): 563-9.
4. LC C, AAM S, EG M, MTSSB A, VS R, VMF A, et al. Fatores associados à inadequação do uso da assistência pré-natal. Rev. Saúde Públ. 2003; 37(4): 456-62.
5. RMSM D, ZMA H, MAB D, MC L. Avaliação da adequação da assistência pré-natal na rede SUS do Município do Rio de Janeiro, Brasil. Cad Saude Publica. 2012; 28(3): 425-37.
6. da Fonseca CR, Strufaldi MW, de Carvalho LR, Puccini RF. Adequacy of antenatal care and its relationship with low birth weight in Botucatu, São Paulo, Brazil: a case-control study. BMC Pregnancy Childbirth. 2014;14:255.
7. XK C, SW W, Q Y, MC W. Adequacy of prenatal care and neonatal mortality in infants born to mothers with and without antenatal high-risk conditions. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2007; 47: 122-7.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolos da atenção básica: saúde das mulheres. Brasília, 2016. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_atencao_basica_saude_mulheres.pdf
9. World Health Organization (WHO). Born too soon : the global action report on preterm birth. Geneva, 2012. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: https://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon-report.pdf
10. World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. Physical status : the use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37003/WHO_TRS_854.pdf?sequence=1&isAllowed=y

11. World Health Organization (WHO). International statistical classification of diseases and related health problems. Geneva, 2010. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: https://www.who.int/classifications/icd/ICD10Volume2_en_2010.pdf
12. Berger R, Rath W, Abele H, Garnier Y, Kuon RJ, Maul H. Reducing the Risk of Preterm Birth by Ambulatory Risk Factor Management. *Dtsch Arztebl Int.* 2019; 116(50): 858-64.
13. Teixeira MP, Queiroga TP, Mesquita MD. Frequency and risk factors for the birth of small-for-gestational-age newborns in a public maternity hospital. *Einstein.* 2016; 14(3): 317-23.
14. Zhou H, Wang A, Huang X, Guo S, Yang Y, Martin K, et al. Quality antenatal care protects against low birth weight in 42 poor counties of Western China. *PLoS One.* 2019; 14(1): e0210393.
15. Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina do Estado de Minas Gerais. Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais -SES. Núcleo de disponível em: Programa de Controle de Toxoplasmose Congênita de Minas Gerais. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: https://www.nupad.medicina.ufmg.br/arquivos/A03_Secao02_Diagnostico_Tratamento.pdf
16. BRASIL. Ministério da Saúde. Nota técnica nº14/2020-COSMU/CGCIVI/DAPES/SAPS/MS. Trata-se de Nota Técnica que apresenta fluxograma de diretriz Nacional para a condução clínica do diagnóstico e tratamento da Toxoplasmose Gestacional e Congênita. Brasília, 2020.
17. BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para prevenção da transmissão vertical do HIV, Sífilis, e Hepatites Virais. Brasília, 2020. [acesso em 20 set 2021]. Disponível em: file:///C:/Users/Jana%C3%ADna/Downloads/miolo_pcdt_pep_08_2021.pdf
18. Maldonado YA, Read JS, AAP Committee on Infectious Diseases. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Congenital Toxoplasmosis in the United States. *Pediatrics.* 2017; 139(2): e2016386019.

19. Carellos EV, Andrade GM, Aguiar RA. Evaluation of prenatal screening for toxoplasmosis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil: a cross-sectional study of postpartum women in two maternity hospitals]. *Cad Saude Publica*. 2008; 24(2): 391-401.
20. Koullali B, van Zijl MD, Kazemier BM, Oudijk MA, Mol BWJ, Pajkrt E, et al. The association between parity and spontaneous preterm birth: a population based study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020; 20(1): 233.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora as gestantes estudadas tenham amplo acesso ao pré-natal na rede pública, com inserção precoce em grande parte dos casos, observamos que o acompanhamento está aquém do mínimo estabelecido pelo Ministério da Saúde.

Assim, apesar de o crescimento intrauterino restrito, baixo peso e prematuridade não terem sido associadas à infecção congênita por citomegalovírus, o acompanhamento inadequado durante o pré-natal, pode contribuir para esses desfechos no período neonatal.

A maior prevalência de Citomegalovirose congênita encontrada na população geral, pode ser atribuída às limitações deste estudo, mas é necessário investigar a prevalência da infecção com novos estudos ou programas de triagem. O diagnóstico para decisão terapêutica, o tratamento, quando indicado, e intervenções de reabilitação precoce, resultam em melhor prognóstico da criança infectada.

O estudo do perfil de citocinas encontrado, com aumento de IFN- α , TNF- β e IL-10 nos pacientes com infecção congênita por CMV pode indicar replicação viral prolongada e consequentemente, resposta inflamatória crônica.

Até o momento, poucos estudos descreveram o perfil de citocinas nesses pacientes. Estudos direcionados para avaliação de resposta celular específica, com marcadores celulares são necessários, podendo auxiliar em estudos de intervenção farmacológica com o objetivo de minimizar o impacto da replicação viral prolongada e resposta inflamatória crônica.

APÊNDICE 1 – TCLE (GRUPO CASO)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVÍRUS, HERPES E ZIKA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Antes de você aceitar que seu filho e você participem desta pesquisa é importante que você leia e entenda esta explicação.

O diagnóstico de infecções maternas com risco de transmissão para o recém-nascido é importante para prevenção e tratamento precoce das crianças acometidas. Vários exames podem ser realizados para descobrir essas infecções, como exame da placenta, do líquido amniótico, exames de sorologia (sangue), ultrassons do feto, exames específicos e no líquido (líquido da espinha). Quando são indicados, ajudam a definir se você e seu filho foram acometidos. Essas infecções podem ser prevenidas ou tratadas. No caso da gestante, o tratamento pode evitar a infecção do feto e no caso da criança o tratamento pode evitar sequelas e melhorar a qualidade de vida, desde que o tratamento seja iniciado precocemente.

O objetivo desta pesquisa é investigar se as crianças nascidas prematuras ou baixo peso ou pequenas para a idade gestacional apresentam relação com infecção causada por vírus como citomegalovírus, parvovírus, herpes e Zika vírus. O exame realizado para identificar essas infecções se chama Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

Teremos dois grupos avaliados neste estudo. Já foi colhido sangue e urina das crianças que foram consideradas que poderiam ser identificadas com essas infecções. O grupo controle, ao qual você poderá participar, inclui recém-nascidos sem nenhuma dessas alterações (prematuras ou baixo peso ou pequenas para a idade gestacional) ou outras doenças ao nascimento e durante o pré-natal que leve a algum desses sinais.

Para isso, gostaríamos de saber se você autoriza a realização dos mesmos exames em sangue que tenha sido colhido para outros exames de rotina. Caso você concorde, utilizaremos o sangue já retirado do seu filho para avaliação de exames de rotina do atendimento no hospital e não será realizada nova coleta de sangue do seu filho. A quantidade de 2ml de sangue ou menor volume será necessário para o utilizarmos para realizar a pesquisa. Caso você não esteja de acordo, o sangue restante será desprezado como todas as amostras de pacientes que não são utilizadas.

Caso você esteja de acordo, gostaríamos também de coletar a urina do seu recém-nascido, com o uso de sacos coletores externos, que são colocados de modo a armazenar a urina do seu filho. Essas amostras são de fundamental importância para nosso estudo e para que possamos estudar e contribuir para melhorar a assistência às mães e recém-nascidos no futuro.

Informações incluindo dados demográficos, informações de pré-natal e condições do nascimento dos recém-nascidos serão retiradas do prontuário (registro) médico, sem qualquer intervenção ou interferência nas práticas assistenciais.

As informações sobre sua doença e de seu filho(a) serão confidenciais e não será usado nome de vocês. Apenas os pesquisadores poderão ter acesso a essas informações e identificá-los.

Todos os outros procedimentos para sua assistência e de seu recém-nascido são rotinas e já são realizados normalmente na maternidade, caso seja identificado o vírus pesquisado ou outros microorganismos em testes realizados na rotina.

Lembramos que não é previsto nenhuma ajuda pela sua participação. Os procedimentos

e tratamento recebidos na rotina da assistência não são considerados complicações da pesquisa.

Se, por algum motivo você desistir de participar do estudo, você e seu filho não serão prejudicados em nenhum aspecto da assistência e continuarão a receber os mesmos procedimentos rotineiros e todo o cuidado necessário para ajudá-los.

Se você tiver alguma dúvida quanto aos seus direitos pode contatar Dra. Roberta Maia de Castro Romanelli (31) 3409 9822, o Comitê de Ética da UFMG, (31) 3409-4592 e da FHEMIG (31) 3239-9642 ou 3239-9650.

Consentimento

Li e entendi as informações acima. Tive a oportunidade de fazer perguntas e esclarecer todas as minhas dúvidas. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim. Concordo em participar juntamente com meu filho do estudo até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

Autorizo o uso da amostra de sangue já colhida

Sim Não

Autorizo a coleta de urina por meio de sacos coletores

Sim Não

Assinatura do(s) responsáveis Data / /

Assinatura do pesquisador Data / /

Assinatura de testemunha Data / /

APÊNDICE 2 - FORMULÁRIO PARA A COLETA DE DADOS

FORMULÁRIO PARA A COLETA DE DADOS

Grupo: Caso Controle

Maternidade: _____

1. IDENTIFICAÇÃO

Identificação: _____ Prontuário: _____

Nome: _____ Data de nascimento: __/__/__

Nome da Mãe: _____

2. DADOS DO PRÉ-NATAL

Idade da mãe: _____ DUM: __/__/__

Inserção no pré-natal (mês da gestação): _____ Número de consultas: _____

Gestações prévias: _____ Partos prévios: _____ Abortos prévios: _____

Prematuridade anterior: Não Sim Causa: _____

USGO: __/__/__ Descrição: _____

USGO: __/__/__ Descrição: _____

USGO: __/__/__ Descrição: _____

Comorbidades: _____

Medicamentos na gestação: _____

Outros diagnósticos: _____

	1° TRIM		2° TRIM		3° TRIM	
	Data	Resultado	Data	Resultado	Data	Resultado
SOROLOGIAS						
HIV	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
HEPATITE B	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
HEPATITE C	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
SÍFILIS	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
RUBÉOLA	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
CMV	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
HERPES	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____
TOXOPLASMOSE	__/__/__	_____	__/__/__	_____	__/__/__	_____

3. DADOS DO PARTO

Data do parto: ___/___/___ Idade gestacional: _____ Idade gestacional completa: _____

Tipo de parto: _____

Peso de nascimento: _____ PC : _____ COMP: _____

Malformação: Não Sim Qual? _____

4. EXAMES:

Hemograma: ___/___/___ Descrição: _____

Reticulócitos: ___/___/___ Descrição: _____

US transfontanela: ___/___/___ Descrição: _____

Punção lombar: ___/___/___ Descrição: _____

RX de ossos longos: ___/___/___ Descrição: _____

5. CLASSIFICAÇÃO:

PIG AIG GIG

RNT RNPT

BP MBP BPE

Legenda:

DUM-data da última menstruação; PC – perímetro cefálico; COMP – comprimento; PIG-pequeno para a idade gestacional; AIG-adequado para a idade gestacional; GIG- grande para a idade gestacional; RNT-recém-nascido a termo; RNPT- recém-nascido pretermo; BP-baixo peso; MBP-muito baixo peso; BPE-baixo peso extremo.

APÊNDICE 3 – TCLE (GRUPO CONTROLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVÍRUS, HERPES E ZIKA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Antes de você aceitar que seu filho e você participem desta pesquisa é importante que você leia e entenda esta explicação.

O diagnóstico de infecções maternas com risco de transmissão para o recém-nascido é importante para prevenção e tratamento precoce das crianças acometidas.

Vários exames podem ser realizados para descobrir essas infecções, como exame da placenta, do líquido amniótico, exames de sorologia (sangue), ultrassons do feto, exames específicos e no líquido (líquido da espinha). Quando são indicados, ajudam a definir se você e seu filho foram acometidos.

Muitas dessas infecções podem ser tratadas. No caso da gestante o tratamento pode evitar a infecção do feto e no caso da criança o tratamento pode evitar sequelas e melhorar a qualidade de vida, desde que o tratamento seja iniciado precocemente.

O objetivo desta pesquisa é investigar se o caso do seu filho ter sido prematuro está relacionado com infecção causada por vírus como citomegalovirus, parvovírus, herpes e Zika virus. Para isso, será feita a pesquisa desse vírus por um exame chamado Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Uma amostra de urina e 2ml de sangue serão coletados do seu filho (a) para realização desse exame. Devido à coleta de sangue pode ocorrer sangramento e aparecer mancha roxa no local. Para tentar reduzir essas complicações, vamos pedir a amostra quando forem coletados outros exames do seu filho(a), pedidos rotineiramente pela equipe médica. Só vamos coletar o sangue se a equipe médica considerar que seu recém-nascido encontra-se estável.

Todos os outros procedimentos para sua assistência e de seu recém-nascido são rotinas e já são realizados normalmente na maternidade, caso seja

identificado o vírus pesquisado ou outros microorganismos em testes realizados na rotina.

As informações sobre sua doença e de seu filho(a) serão confidenciais e não será usado nome de vocês. Apenas os pesquisadores poderão ter acesso a essas informações e identificá-los.

Lembramos que não é previsto nenhuma ajuda pela sua participação. Os procedimentos e tratamento recebidos na rotina da assistência não são considerados complicações da pesquisa.

Se, por algum motivo você desistir de participar do estudo, você e seu filho não serão prejudicados em nenhum aspecto da assistência e continuarão a receber os mesmos procedimentos rotineiros e todo o cuidado necessário para ajudá-los.

Se você tiver alguma dúvida quanto aos seus direitos pode contatar Dra. Roberta Maia de Castro Romanelli (31) 3409 9822, a Dra. Renata Coimbra Prates (31) 3298-6044, o Comitê de Ética da UFMG, (31) 3409-4592 e da FHEMIG (31) 3239-9642 ou 3239-9650.

Consentimento

Li e entendi as informações acima. Tive a oportunidade de fazer perguntas e esclarecer todas as minhas dúvidas. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim. Concordo em participar juntamente com meu filho do estudo até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

_____ /_/_

Assinatura da paciente

Data

_____ /_/_

Assinatura do pesquisador

Data

_____ /_/_

Assinatura de testemunha

Data

ANEXO 1 – PARECER DO CEP (UFMG)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, HERPES VÍRUS E PARVOVÍRUS EM ABORTAMENTO E PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 07849612.6.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina ((UFMG))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 156.809

Data da Relatoria: 23/11/2012

Apresentação do Projeto:

Parte-se da hipótese de que casos de abortamento e prematuridade sem causa aparente podem ser associados a infecções congênitas virais, especialmente CMV, Parvovírus

B19 e Herpes simplex 1 e 2. Estudo será realizado em duas etapas. 1ª. Estudo transversal com inclusão de placentas decorrentes de abortamento ou parto prematuro encaminhadas para avaliação anatomopatológica de rotina e armazenadas em parafina pela Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG para realização de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) associada a imuno-histoquímica para identificação de Citomegalovirus, Herpes virus e Parvovirus. 2ª. Estudo prospectivo, com inclusão de placentas encaminhadas para avaliação anatomo-patológica de rotina. Também serão avaliados os recém-nascidos prematuros, que não apresentem causa definida para a prematuridade. Será realizada pesquisa do DNA viral por PCR para os mesmos agentes nas placentas e em sangue periférico de recém-nascidos prematuros sem causa definida. Serão coletados dados, em questionário estruturado, relativos ao diagnóstico materno, alterações placentárias e manifestações clínicas no recém-nascido. Local do estudo: Maternidade do HC/UFMG, Serviço de Anatomia

Patológica, para a propedêutica proposta em placenta; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular (INCT - MM) onde será realizada PCR em sangue periférico. Serão identificadas mulheres maiores de 18 anos, independente da etnia, que tenham sido assistidas na maternidade e tenham evoluído com abortamento espontâneo ou parto prematuro sem causa definida. Essas placentas são enviadas para investigação rotineira no setor de Anatomia Patológica

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2ª Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: 3134-0945 **Fax:** 3134-0945 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br, coep@reitoria.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



e serão identificadas por listagem na maternidade. Para avaliação de recém-nascidos prematuros sem causa definida ou com sintomas relacionados a infecções congênitas poderão ser incluídos. Os métodos utilizados estão descritos. Análise estatística.

Objetivo da Pesquisa:

Detectar infecções por citomegalovírus, parvovírus B19 e herpes simplex vírus 1 e 2 em placentas de abortamento e de prematuros sem causa aparente do Hospital das Clínicas da UFMG. Objetivo Secundário: - Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus B19 e herpes simplex vírus 1 e 2 em prematuros sem causa aparente.-
Correlacionar os achados placentários com dados da historia clínica e propedêutica da gestante durante o prenatal e diagnóstico do recém-nascido

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão descritos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa é viável

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou anuência da Unidade Funcional e questionário a ser aplicado

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

SMJ, sou pela aprovação

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado conforme parecer.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 8627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: 3134-0945 **Fax:** 3134-0945 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



BELO HORIZONTE, 28 de Novembro de 2012

Assinador por:
Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: 3134-0945 **Fax:** 3134-0945 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br; coep@reitoria.ufmg.br

ANEXO 2 – EMENDA 1 - PARECER CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVÍRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 07849612.6.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.451.153

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo prospectivo em maternidades de referência de Belo Horizonte, de 2016 a 2018. Será realizada pesquisa de CMV, parvovírus, herpes e Zica virus por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em urina e sangue periférico de recém-nascidos com prematuridade sem causa aparente. Além disso, serão coletados dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o pré-natal e obtidos em prontuário, e diagnóstico do RN. Nesse braço prospectivo, para investigação do CMV parvovírus, herpes e Zica virus, será feita coleta de urina e 2 ml de sangue periférico de recém-nascidos para realização de PCR. Há estrutura física para realização dos exames laboratoriais propostos no INCT (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia), no laboratório de biologia molecular na Faculdade de Medicina/UFMG, parceiro da pesquisa. Novo recurso pelo Edital FAPEMIG – Demanda Universal 2014 foi obtido para continuidade e execução da segunda parte do projeto, já aprovada previamente. O banco de dados e análise estatística serão realizados com o Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 19.0.

Local da Pesquisa - Estudo a ser realizado em maternidades de referência em alto risco obstétrico, com alta prevalência de prematuridade (18%). Pretende-se incluir HC/UFMG (projeto já aprovado), Odete Valadares, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves. Há parceria científica com setores da Faculdade de Medicina da UFMG (FM/UFMG) como o Instituto Nacional de Ciência e

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.451.153

Tecnologia em Medicina Molecular (INCT - MM) onde será realizada PCR em urina sangue periférico (parceria com Dra Débora Marques Miranda). É setor de referência para execução dos exames e contam com toda infra-estrutura necessária. População a ser estudada - Para avaliação de recém-nascidos prematuros sem causa definida > 28 semanas de idade gestacional e/ou >1.000g ou com sintomas relacionados a infecções congênitas poderão ser incluídos e a equipe será comunicada pelos médicos assistentes, caso o recém-nascido preencha critérios de inclusão e necessite investigação. Métodos que possam afetar diretamente os sujeitos da pesquisa - Haverá coleta de sangue periférico de recém-nascidos, desde que consentido pelo pais e não haja instabilidade do paciente. As complicações estão relacionadas ao procedimento, com complicações da técnica como sangramento e hematomas locais. No entanto, será solicitado a amostra quando a equipe assistencial necessitar de outros exames de rotina para evitar nova punção venosa apenas para amostra para pesquisa. Os resultados podem contribuir na assistência de gestantes e outros recém-nascidos na definição de propedêutica de investigação de infecções pelo CMV. - Fontes de material para pesquisa; urina e sangue periférico de recém-nascidos com prematuridade sem causa ou suspeita de infecção congênita a esclarecer (Vide População a ser estudada); além de dados clínicos e propedêutica propedêutica realizada no prenatal e de assistência ao recém-nascido serão rotineiramente para serão coletados em formulário próprio, diretamente do prontuário médico, não havendo interferência na rotina assistencial. Uma vez identificado RN de risco será necessária realização de ultrassonografia transfontanelar e triagem auditiva na maternidade. Análise estatística: As informações serão digitadas e analisadas em banco de dados criado no Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 19.0.

Critério de Inclusão:

- Recém-nascido prematuro, sem causa aparente, correspondente a as placentas investigadas, cuja prematuridade não foi atribuída a nenhuma causa aparente.

Critério de Exclusão:

- Recém nascidos que, apesar de preencherem os critérios de inclusão, estejam instáveis clinicamente para coleta de amostra de sangue.

- Recém nascidos que não tenham recebido consentimento de seu responsável legal na participação no estudo em questão.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Detectar infecções por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em prematuros sem causa definida em maternidades de referencia de Belo Horizonte.

Objetivo Secundário:

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.451.153

- Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em recém-nascidos prematuros sem causa aparente.
- Correlacionar os achados com dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o prenatal e diagnóstico do recém-nascido (RN).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O risco potencial é aquele atribuído a uma coleta de sangue venoso periférico. As complicações estão relacionadas ao procedimento, com complicações da técnica como sangramento e hematomas locais. Esse tipo de procedimento faz parte, frequentemente, da assistência ao RN internado. Ressalta-se que será solicitado a amostra quando a equipe assistencial necessitar de outros exames de rotina para evitar nova punção venosa apenas para amostra para pesquisa. Acredita-se que o benefício da investigação de infecção congênita pelos agentes pesquisados superam os riscos, uma vez que os resultados podem contribuir na assistência de gestantes e outros recém-nascidos na definição de propedêutica de investigação de infecções congênitas pelo CMV.

Benefícios: Com a determinação da prevalência de infecção congênita por CMV, pretende-se ampliar a investigação de infecções congênitas no prenatal e para o recém-nascido, visando melhorias na assistência do binômio mãe-filho no prenatal e pós-parto. O pronto diagnóstico permite a possibilidade de tratamento precoce da infecção, com redução do acometimento fetal e de recém-nascidos. Embora a triagem e tratamento da gestante ainda não estejam estabelecidos, a identificação precoce do recém-nascidos acometido, permitem redução de lesões neurológicas e auditivas visando indivíduos de inserção social, economicamente ativos quando alcançarem idade laborativa. Com obtenção dos resultados e novos recursos pretende-se dar continuidade a linha de pesquisa proposta, com novos projetos, com o objetivo de implementar propedêutica e definir protocolos para o diagnóstico da gestante e do feto com infecções de transmissão vertical, além do diagnóstico precoce do recém-nascido, permitindo a redução do número de crianças infectadas ou de lesões que possam levar a sequelas. Os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não, serão relatados em eventos científicos da área e publicados em revistas especializadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da Emenda: Considerou-se a importância, nessa segunda etapa já prevista de realizar o estudo em parceria com as principais maternidades de Belo Horizonte, além de incluir pesquisa para Zica vírus devido ao contexto epidemiológico.

Projeto já aprovado no Hospital das Clínicas--UFMG, onde foram autorizados os exames

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S/J 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coeep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.451.153

laboratoriais e será submetido à avaliação na Maternidade Odete Valadares – FHEMIG, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Presentes: Folha de Rosto devidamente preenchida e assinada pela coordenadora da pesquisa e pelo diretor da Faculdade de Medicina da UFMG, com o título DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVIRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA; projeto de pesquisa original, registro na DEPE; termo de compromisso assinado por todos os pesquisadores; anuência dos laboratórios; parecer aprovado em reunião departamental da Pediatria - FM - UFMG em 17/08/2012; TCLE; anuência da maternidade; questionário.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação da emenda ao projeto de pesquisa.

Gentileza inserir na plataformabrasil a declaração do NEPE - Hospital Risoleta Tolentino Neves (HRTN).

Gentileza substituir as frases do TCLE:

"não será usado nome de vocês" por "não será usado o nome de vocês"

"Lembramos que não é previsto nenhuma ajuda pela sua participação" por " você não terá nenhum custo, nem receberá dinheiro para participar da pesquisa".

"Receberei uma cópia assinada deste consentimento" "Receberei uma via assinada deste consentimento".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis à aprovação da emenda ao projeto "DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVIRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA" da Pesquisadora Responsável Roberta Maia de Castro Romanelli, com a realização do estudo em parceria com as maternidades de Belo Horizonte: Hospital das Clínicas da UFMG, Maternidade Odete Valadares – FHEMIG, Hospital Sofia Feldman e Hospital Risoleta Tolentino Neves, além de incluir pesquisa para Zica vírus.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG/ COEP-UFMG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901

UF: MG Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.451.153

emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_661573E1.pdf	03/03/2016 22:49:56		Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoCongenitasVirus030316.pdf	03/03/2016 22:47:30	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS21022016.pdf	21/02/2016 21:44:39	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECONGENITAS2016.pdf	21/02/2016 21:40:04	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	Formulario.pdf	21/11/2012 21:32:07		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Aprovaçãomaternidade.pdf	21/11/2012 21:03:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DEPECongenitas.pdf	16/10/2012 19:12:26		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovacaodoSetorBiolMolec.pdf	19/09/2012 15:22:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçaoCamaraPed.pdf	19/09/2012 14:15:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoCongenitasCOEP.pdf	18/09/2012 20:29:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
 Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.451.153

BELO HORIZONTE, 15 de Março de 2016

Assinado por:
Telma Campos Medeiros Lorentz
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

ANEXO 3 – PARECER DO CEP (HOSPITAL SOFIA FELDEMAN)

HOSPITAL SOFIA FELDEMAN/
FUNDAÇÃO DE ASSISTENCIAL
INTEGRAL À SAÚDE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVÍRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07849612.6.3002.5132

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.474.765

Apresentação do Projeto:

Trata-se de segunda parte de projeto de pesquisa proposto pela Universidade Federal de Minas Gerais para investigação prospectiva de recém-nascidos prematuros e provável associação com infecções virais, com recurso obtido através de Edital FAPEMIG - Demanda Universal 2014.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Detectar infecções por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em prematuros sem causa definida em maternidades de referência de Belo Horizonte.

Objetivo Secundário:

- Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em recém-nascidos prematuros sem causa aparente.

- Correlacionar os achados com dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o prenatal e diagnóstico do recém-nascido (RN).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O risco potencial é decorrente da coleta do sangue venoso periférico do paciente, como

Endereço: Rua Antônio Bandeira, 1080	CEP: 31.844-130
Bairro: Tupi	
UF: MG	Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3408-2249	Fax: (31)3408-2218
	E-mail: lep@sofiafeldman.org.br

HOSPITAL SOFIA FELDEMAN/
FUNDAÇÃO DE ASSISTENCIAL
INTEGRAL À SAÚDE



Continuação do Parecer: 1.474.765

sangramento e hematomas locais. Esse tipo de procedimento faz parte, frequentemente, da assistência ao RN internado. Ressalta-se que serão solicitadas as amostras já coletadas pela equipe assistencial para outros exames de rotina para evitar nova punção venosa apenas para amostra da pesquisa. Acredita-se que o benefício da investigação de infecção congênita pelos agentes pesquisados superam os riscos, uma vez que os resultados podem contribuir na assistência de gestantes e outros recém-nascidos na definição de propedêutica de investigação de infecções congênitas pelo CMV.

Benefícios:

Com a determinação da prevalência de infecção congênita por CMV, pretende-se ampliar a investigação de infecções congênitas no prenatal e para o recém-nascido, visando melhorias na assistência do binômio mãe-filho no prenatal e pós-parto. O pronto diagnóstico permite a possibilidade de tratamento precoce da infecção, com redução do acometimento fetal e de recém-nascidos. Embora a triagem e tratamento da gestante ainda não estejam estabelecidos, a identificação precoce de recém-nascidos acometidos permite a redução de lesões neurológicas e auditivas visando indivíduos de inserção social, economicamente ativos quando alcançarem idade laborativa. Com obtenção dos resultados e novos recursos pretende-se dar continuidade a linha de pesquisa proposta, com novos projetos, com o objetivo de implementar propedêutica e definir protocolos para o diagnóstico da gestante e do feto com infecções de transmissão vertical, além do diagnóstico precoce do recém-nascido, permitindo a redução do número de crianças infectadas ou de lesões que possam levar a sequelas. Os resultados da pesquisa serão tomados públicos, sejam eles favoráveis ou não, serão relatados em eventos científicos da área e publicados em revistas especializadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo prospectivo com os objetivos já delineados acima, one serão coletadas amostras de urina e sangue de recém-nascidos prematuros sem causa definida > 28 semanas de idade gestacional e/ou >1.000g ou com sintomas relacionados a infecções congênitas, para análise da prevalência de CMV, parvovírus, herpes e Zica virus por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Os pressupostos científicos da pesquisa foram bem delineados assim como a apresentação das referências bibliográficas que justificam a importância do projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados, inclusive TCLE para pais dos sujeitos da pesquisa.

Endereço: Rua Antônio Bandeira, 1080
Bairro: Tupi CEP: 31.844-130
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3408-2249 Fax: (31)3408-2218 E-mail: lep@sofiafeldman.org.br

HOSPITAL SOFIA FELDEMAN/
FUNDAÇÃO DE ASSISTENCIAL
INTEGRAL À SAÚDE



Continuação do Parecer: 1.474.765

Recomendações:

Nenhuma recomendação adicional

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Concluo pela aprovação do projeto, não havendo pendências nem inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_661573E1.pdf	03/03/2016 22:49:56		Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoCongenitasVirus030316.pdf	03/03/2016 22:47:30	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS21022016.pdf	21/02/2016 21:44:39	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECONGENITAS2016.pdf	21/02/2016 21:40:04	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	Formulario.pdf	21/11/2012 21:32:07		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Aprovaçãomaternidade.pdf	21/11/2012 21:03:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DEPECongenitas.pdf	16/10/2012 19:12:26		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovacaodoSetorBiolMolec.pdf	19/09/2012 15:22:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçaoCamaraPed.pdf	19/09/2012 14:15:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoCongenitasCOEP.pdf	18/09/2012 20:29:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Antônio Bandeira, 1080
Bairro: Tupi CEP: 31.844-130
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3408-2249 Fax: (31)3408-2218 E-mail: lep@sofiafeldman.org.br

HOSPITAL SOFIA FELDEMAN/
FUNDAÇÃO DE ASSISTENCIAL
INTEGRAL À SAÚDE



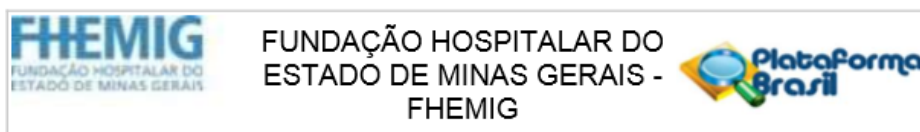
Continuação do Parecer: 1.474.765

BELO HORIZONTE, 01 de Abril de 2016

Assinado por:
Tatiana Coelho Lopes
(Coordenador)

Endereço: Rua Antônio Bandeira, 1080
Bairro: Tupi CEP: 31.844-130
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3408-2249 Fax: (31)3408-2218 E-mail: lep@sofiafeldman.org.br

ANEXO 4 – PARECER DO CEP (FHEMIG)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVIRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07849612.6.3001.5119

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

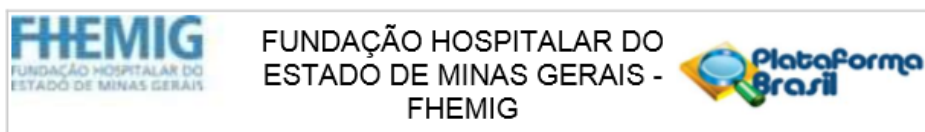
Número do Parecer: 1.664.305

Apresentação do Projeto:

Projeto devidamente encaminhado, contando com aprovação do CEP da Instituição Proponente – UFMG - Número do Parecer: 1.451.153.

Planejou-se o estudo em duas etapas. Na primeira etapa, um estudo transversal com inclusão de placentas decorrentes de abortamento ou parto prematuro encaminhadas para avaliação anatomo-patológica de rotina e armazenadas em parafina pela Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG para realização de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) associada a imuno-histoquímica para identificação de Citomegalovirus, Herpes virus e Parvovirus. Na segunda etapa, propõe-se um estudo prospectivo, com inclusão de placentas encaminhadas para avaliação anatomo-patológica de rotina. Também serão avaliados os recém-nascidos prematuros, que não apresentem causa definida para a prematuridade. Será realizada pesquisa do DNA viral por PCR para os mesmos agentes nas placentas e em sangue periférico de recém-nascidos prematuros sem causa definida. Serão coletados dados, em questionário estruturado, relativos ao diagnóstico materno, alterações placentárias e manifestações clínicas no recém-nascido.

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100
Bairro: Bairro Santa Efigênia **CEP:** 30.150-260
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3239-9552 **Fax:** (31)3239-9552 **E-mail:** cep@fhemig.mg.gov.br



Continuação do Parecer: 1.664.305

Objetivo da Pesquisa:

Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus, herpes e Zica vírus em prematuros sem causa aparente em hospitais de referência de Belo Horizonte e correlacionar o diagnóstico de CMV no recém-nascido com dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o pré-natal, além de alterações audiológicas e ultrassonográficas do recém-nascido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

- RISCOS: o estudo apresenta baixos riscos, pois se baseia em intervenção já padronizada e validada na literatura nacional e internacional.
- BENEFÍCIOS: benefícios diretos para os envolvidos, para a comunidade científica em geral e a FHEMIG.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Projeto: Relevante, pertinente e de valor científico;
- Metodologia: Adequada para se alcançar o objetivo proposto;
- Currículos: Com competência reconhecida para a condução do estudo;
- Cronograma: Adequado;
- Aspectos Éticos: O projeto cumpre a Res.466/2012 do CNS-MS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Projeto: devidamente descrito;
- TCLE: adequado para o perfil da amostra;
- FR: devidamente preenchida e assinada;
- Parecer GEP: aprovado.

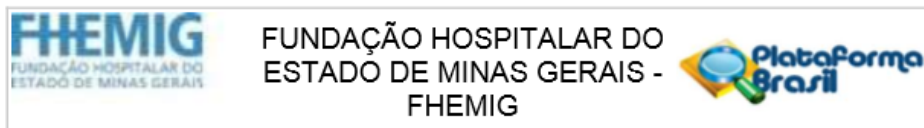
Recomendações:

- Enviar semestralmente ao CEP-FHEMIG os relatórios parciais e/ou final da pesquisa via Plataforma Brasil.
- Corrigir no TCLE o contato do CEP-FHEMIG: Alameda Álvaro Celso, 100, Sta. Efigênia, BH-MG. Telefone: (31)3239-9552. e-mail: cep@fhemig.mg.gov.br

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- O estudo pode ser realizado com base na metodologia e nos documentos apresentados.

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100			
Bairro: Bairro Santa Efigênia	CEP: 30.150-260		
UF: MG	Município: BELO HORIZONTE		
Telefone: (31)3239-9552	Fax: (31)3239-9552	E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br	



Continuação do Parecer: 1.664.305

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_661573E1.pdf	03/03/2016 22:49:56		Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoCongenitasVirus030316.pdf	03/03/2016 22:47:30	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS21022016.pdf	21/02/2016 21:44:39	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECONGENITAS2016.pdf	21/02/2016 21:40:04	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	Formulario.pdf	21/11/2012 21:32:07		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçãoMaternidade.pdf	21/11/2012 21:03:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DEPECongenitas.pdf	16/10/2012 19:12:26		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovacaodoSetorBiolMolec.pdf	19/09/2012 15:22:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçaoCamaraPed.pdf	19/09/2012 14:15:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoCongenitasCOEP.pdf	18/09/2012 20:29:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 05 de Agosto de 2016

Assinado por:
Vanderson Assis Romualdo
(Coordenador)

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100
Bairro: Bairro Santa Efigênia CEP: 30.150-280
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3239-9552 Fax: (31)3239-9552 E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br

ANEXO 5 – EMENDA 2 - PARECER CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVIRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 07849612.6.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.060.153

Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda a projeto previamente aprovado. A emenda se refere à inclusão de um grupo controle, no entanto, não se especifica o número de recém-nascidos prematuros e controles (mas não houve alteração no número total de participantes).

Segundo a pesquisadora:

"Planejou-se o estudo em duas etapas. Na primeira etapa, um estudo transversal com inclusão de placentas decorrentes de abortamento ou parto prematuro encaminhadas para avaliação anatomo-patológica de rotina e armazenadas em parafina pela

Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG para realização de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) associada a imunohistoquímica para identificação de Citomegalovirus, Herpes virus e Parvovirus.

Na segunda etapa, propõe-se um estudo prospectivo, com inclusão de placentas encaminhadas para avaliação anatomo-patológica de rotina.

Também serão avaliados os recém-nascidos prematuros, que não apresentem causa definida para

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 8627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.080.153

a

prematividade. Será realizada pesquisa do DNA viral por PCR para os mesmos agentes nas placentas e em sangue periférico de recém-nascidos prematuros sem causa definida. Serão coletados dados, em questionário estruturado, relativos ao diagnóstico materno, alterações placentárias e manifestações clínicas no recém-nascido." O projeto inclui coleta de sangue e urina dos recém-nascidos prematuros, o que costuma fazer parte da assistência, segundo a pesquisadora. A inclusão de um grupo controle irá permitir correlacionar os resultados já coletados aos de um grupo de recém-nascidos a termo. Está prevista a análise de sangue que já será coletado dos controles para outros exames e a coleta da urina, desde que autorizados pelos pais.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo a pesquisadora:

"Objetivo Primário:

- Detectar infecções por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em prematuros sem causa definida em maternidades de referência de Belo Horizonte.

Objetivo Secundário:

- Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em recém-nascidos prematuros sem causa aparente.

- Correlacionar os achados com dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o prenatal e diagnóstico do recém-nascido (RN)."

Com a emenda, um novo objetivo está delineado: correlacionar os dados já obtidos com os dados dos controles (que ainda serão obtidos).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora:

"Riscos:

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.080.153

O risco potencial é aquele atribuído a uma coleta de sangue venoso periférico. As complicações estão relacionadas ao procedimento, com complicações da técnica como sangramento e hematomas locais. Esse tipo de procedimento faz parte, frequentemente, da assistência ao RN internado. Ressalta-se que será solicitado a amostra quando a equipe assistencial necessitar de outros exames de rotina para evitar nova punção venosa apenas para amostra para pesquisa. Acredita-se que o benefício da investigação de infecção congênita pelos agentes pesquisados superam os riscos, uma vez que os resultados podem contribuir na assistência de gestantes e outros recém-nascidos na definição de propedêutica de investigação de infecções congênitas pelo CMV. Os sacos coletores são colocados na região da genitária e ocasionalmente podem causar irritação da pele (dermatite). Se isso ocorrer, suspenderemos a coleta da urina e trataremos a dermatite com pomadas específicas.

Benefícios:

Com a determinação da prevalência de infecção congênita por CMV, pretende-se ampliar a investigação de infecções congênitas no prenatal e para o recém-nascido, visando melhorias na assistência do binômio mãe-filho no prenatal e pós-parto. O pronto diagnóstico permite a possibilidade de tratamento precoce da infecção, com redução do acometimento fetal e de recém-nascidos. Embora a triagem e tratamento da gestante ainda não estejam estabelecidos, a identificação precoce do recém-nascidos acometido, permitem redução de lesões neurológicas e auditivas visando indivíduos de inserção social, economicamente ativos quando alcançarem idade laborativa. Com

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.080.153

obtenção dos resultados e novos recursos pretende-se dar continuidade a linha de pesquisa proposta, com novos projetos, com o objetivo de implementar propedêutica e definir protocolos para o diagnóstico da gestante e do feto com infecções de transmissão vertical, além do diagnóstico precoce do recém-nascido, permitindo a redução do número de crianças infectadas ou de lesões que possam levar a sequelas. Os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não, serão relatados em eventos científicos da área e publicados em revistas especializadas."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto relevante para a área de neonatologia, pediatria, obstetrícia e infectologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados novo projeto detalhado e TCLE e foram realizadas atualizações nas informações básicas do projeto na Plataforma Brasil.

Recomendações:

Solicita-se anexar a folha de rosto devidamente assinada com o número total de sujeitos (400).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considerando que as adequações solicitadas foram realizadas e certa de que a recomendação será acatada, S.M.J., sou favorável à aprovação da emenda.

- 1) Acrescentar campo para rubricado responsável na primeira página do TCLE.
- 2) Substituir a palavra "cópia" por "via" no TCLE.
- 3) Acrescentar o endereço eletrônico da pesquisadora.
- 4) Acrescentar o endereço e email do Comitê de Ética no TCLE e informar que o comitê deverá ser contactado para dúvidas de aspecto ético.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
 Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.080.153

emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_1225438_E2.pdf	13/11/2018 13:16:10		Aceito
Outros	AdendoCOEP071118.pdf	07/11/2018 20:52:36	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS071118.pdf	07/11/2018 20:51:15	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS241018.pdf	24/10/2018 21:56:55	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE241018.pdf	24/10/2018 21:39:11	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	RESPOSTACOEP241018.pdf	24/10/2018 21:38:52	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	AdendoCOEP210918.pdf	22/09/2018 11:53:33	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE210918.pdf	22/09/2018 11:49:02	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoCongenitasVirus030316.pdf	03/03/2016 22:47:30	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS21022016.pdf	21/02/2016 21:44:39	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECONGENITAS2016.pdf	21/02/2016 21:40:04	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçãoMaternidade.pdf	21/11/2012 21:03:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DEPECongenitas.pdf	16/10/2012 19:12:26		Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901

UF: MG Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.080.153

Declaração de Pesquisadores	AprovacaodoSetorBiolMolec.pdf	19/09/2012 15:22:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçaoCamaraPed.pdf	19/09/2012 14:15:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoCongenitasCOEP.pdf	18/09/2012 20:29:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 05 de Dezembro de 2018

Assinado por:
Eliane Cristina de Freitas Rocha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

ANEXO 6 - EMENDA 3- PARECER CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS, PARVOVÍRUS, HERPES VIRUS E ZICA VIRUS EM PREMATURIDADE SEM CAUSA DEFINIDA

Pesquisador: Roberta Maia de Castro Romanelli

Área Temática:

Versão: 7

CAAE: 07849612.6.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.365.236

Apresentação do Projeto:

Esta emenda ao projeto de pesquisa tem como justificativa "As instituições Maternidade Odete Valadares - FHEMIG e Hospital Sofia Feldmam não tem a ementa vinculada, já aprovada pela UFMG e Hospital Risoleta Tolentino Neves".

O projeto já foi aprovado pelo CEP – UFMG em parecer anterior e também em emendas de pareceres de números: 3.060.153 (Emenda 2) e 1.451.153 (Emenda 1).

Objetivo da Pesquisa:

Conforme apresentado no formulário de informações básicas:

Objetivo Primário: - Detectar infecções por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em prematuros sem causa definida em maternidades de referência de Belo Horizonte.

Objetivo Secundário: - Identificar a prevalência de infecção por citomegalovírus, parvovírus, herpes vírus e Zica vírus em recém-nascidos prematuros sem causa aparente. - Correlacionar os achados com dados da história clínica e propedêutica da gestante durante o prenatal e diagnóstico do recém-nascido (RN).

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.365.236

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Nos TCLEs está descrito: "Devido à coleta de sangue pode ocorrer sangramento e aparecer mancha roxa no local. Para tentar reduzir essas complicações, vamos pedir a amostra quando forem coletados outros exames do seu filho(a), pedidos rotineiramente pela equipe médica." "Os sacos coletores são colocados na região da genitália e ocasionalmente podem causar irritação da pele (dermatite). Se isso ocorrer, suspenderemos a coleta da urina e trataremos a dermatite com pomadas específicas."

Benefícios: Nas informações básicas do projeto está escrito: "Com a determinação da prevalência de infecção congênita por CMV, pretende-se ampliar a investigação de infecções congênitas no pré-natal e para o recém-nascido, visando melhorias na assistência do binômio mãe-filho no pré-natal e pós-parto. O pronto diagnóstico permite a possibilidade de tratamento precoce da infecção, com redução do acometimento fetal e de recém-nascidos. Embora a triagem e tratamento da gestante ainda não estejam estabelecidos, a identificação precoce do recém-nascidos acometido, permitem redução de lesões neurológicas e auditivas visando indivíduos de inserção social, economicamente ativos quando alcançarem idade laborativa. Com obtenção dos resultados e novos recursos pretende-se dar continuidade a linha de pesquisa proposta, com novos projetos, com o objetivo de implementar propedêutica e definir protocolos para o diagnóstico da gestante e do feto com infecções de transmissão vertical, além do diagnóstico precoce do recém-nascido, permitindo a redução do número de crianças infectadas ou de lesões que possam levar a sequelas. Os resultados da pesquisa serão tomados públicos, sejam eles favoráveis ou não, serão relatados em eventos científicos da área e publicados em revistas especializadas"

No TCLE está descrito: "Essas amostras são de fundamental importância para nosso estudo e para que possamos estudar e contribuir para melhorar a assistência às mães e recém-nascidos no futuro".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores solicitam a vinculação da Emenda que foi aprovada pela UFMG e Hospital Risoleta Tolentino Neves nas Instituições Maternidade Odete Valadares - FHEMIG e Hospital Sofia Feldmam. Não houve mudança na metodologia em relação as Emendas que foram aprovadas recentemente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram realizadas atualizações nas informações básicas do projeto na Plataforma Brasil com a

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
 Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.385.236

inclusão das instituições coparticipante Maternidade Odete Valadares - FHEMIG e Hospital Sofia Feldmam.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conforme as considerações apresentadas, sou, S.M.J., favorável à aprovação da emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_1358256_E3.pdf	16/05/2019 13:03:17		Aceito
Outros	AdendoCOEP071118.pdf	07/11/2018 20:52:36	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS071118.pdf	07/11/2018 20:51:15	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS241018.pdf	24/10/2018 21:56:55	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE241018.pdf	24/10/2018 21:39:11	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	RESPOSTACOEP241018.pdf	24/10/2018 21:38:52	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Outros	AdendoCOEP210918.pdf	22/09/2018 11:53:33	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE210918.pdf	22/09/2018 11:49:02	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901

UF: MG Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.365.236

Folha de Rosto	FolhaRostoCongenitasVirus030316.pdf	03/03/2016 22:47:30	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCONGENITAS21022016.pdf	21/02/2016 21:44:39	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECONGENITAS2016.pdf	21/02/2016 21:40:04	Roberta Maia de Castro Romanelli	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Aprovaçãomaternidade.pdf	21/11/2012 21:03:46		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DEPECongenitas.pdf	16/10/2012 19:12:26		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovacaodoSetorBiolMolec.pdf	19/09/2012 15:22:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	AprovaçaoCamaraPed.pdf	19/09/2012 14:15:10		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoCongenitasCOEP.p df	18/09/2012 20:29:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 03 de Junho de 2019

Assinado por:
Eliane Cristina de Freitas Rocha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br