

Infecções Pré-Natais. Avaliação de Método Simplificado (Rapi Tex IgM) em sua Triagem

Os autores submeteram 500 recém-nascidos a teste simplificado (Rapi Tex IgM) que por simples reação de aglutinação evidencia quantidades anormalmente elevadas de IgM no sangue do cordão umbilical.

Os resultados obtidos pela triagem foram avaliados através de dosagens de IgM no sangue do cordão umbilical, exame morfológico de placentas (macro e microscopia), acompanhamento clínico e laboratorial de alguns casos e exame anatomopatológico dos casos em que ocorreu o óbito.

Concluem pela validade do teste na triagem de Infecções pré-natais.

LUDMA TROTTA DALLALANA

Pediatra do IFF-FIOCRUZ. Pesquisadora do CNPq.

APARECIDA GOMES PINTO GARCIA

Chefe do Serviço de Anatomia Patológica do IFF-FIOCRUZ. Pesquisadora do CNPq.

REGINA CELIA SOUZA MARQUES

Anatomopatologista do IFF-FIOCRUZ.

PEDRO PAULO D'ALBUQUERQUE MEDEIROS

Estagiário do IFF-FIOCRUZ.

MARIA LUZIA FONSECA FRANÇA

Residente do IFF-FIOCRUZ.

KATIA MARIA RATTO LIMA

Pesquisadora auxiliar do IFF-FIOCRUZ.

SANDRA TORTURELLA LOBO

Pesquisadora auxiliar do IFF-FIOCRUZ.

ROSA MARIA DE CARVALHO PINTO

Pesquisadora auxiliar do IFF-FIOCRUZ.

YOLANDA IAMAKI LOBATO

Citologista do IFF-FIOCRUZ.

MOACYR P. CORDOVI

Neurologista do IFF-FIOCRUZ.

FLAVIO DE MARTINO

Patologista clínico do IFF-FIOCRUZ.

RICARDO NEVES

Oftalmologista do Hospital das Clínicas da UERJ.

INTRODUÇÃO

Desde a concepção até o nascimento o feto em desenvolvimento assim como o recém-nascido, podem ser acometidos por uma variedade de infecções.

As formas assintomáticas, subclínicas ou discretas, muito mais frequentes do que as mais graves (1-2), que se apresentam com cortejo de sintomas, podem ser detectadas ao nascimento, por teores anormalmente elevados de IgM no sangue do cordão umbilical (3, 5, 6, 9, 10).

Nosso trabalho tem como principal objetivo verificar a validade de um teste que, por simples reação de aglutinação, evidencia teores anormalmente elevados de IgM no sangue do cordão umbilical, para sua utilização na triagem de infecções pré-natais.

MATERIAL E MÉTODOS

Quinhentos recém-nascidos da Maternidade Clóvis Corrêa da Costa (IFF-FIOCRUZ) foram submetidos à reação Rapi Tex IgM.

O Kit utilizado para essa reação consiste em uma placa de acrílico com fundo negro, dividida em seis campos: dois soros padrões (um soro controle-positivo e um controle-negativo); um reagente Rapi Tex IgM, que é uma suspensão aquosa de partículas de poliestireno recobertas por anticorpo anti-IgM humana.

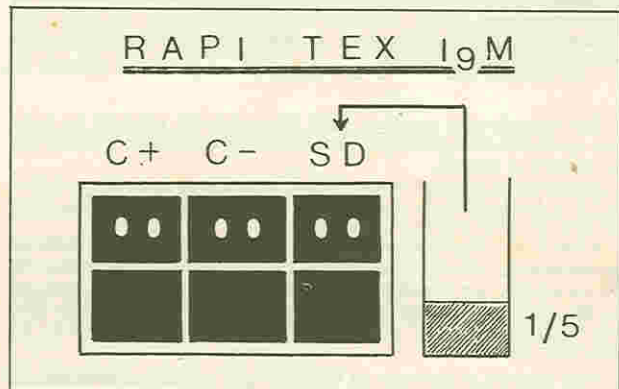


Figura 1 — Esquematização do teste.

Técnica utilizada:

1) Colheita de material

Foram colhidos, por ocasião do parto, por gotejamento, em tubo de ensaio, sem anticoagulante, cerca de 5 ml de sangue do cordão umbilical.

Após centrifugação durante cinco minutos (3.000 rotações/minuto), fez-se a separação do soro, aspirando-o com seringa especial.

2) Execução da reação Rapi Tex IgM no soro

a) diluição do soro a ser examinado (0,01 ml de soro/0,1 ml de soro fisiológico).

b) transferência do soro a ser examinado (2,0 µl da solução acima) para um dos campos da placa de acrílico.

Transferem-se também quantidades iguais de soro controle-positivo e soro controle-negativo para outros dois campos.

c) adiciona-se o reagente Rapi Tex IgM (2,0 µl à cada amostra do soro que se transferiu para a placa).

d) misturam-se, por meio de espátulas, os soros com os reagentes, nos diversos campos, e imprimem-se movimentos de rotação à placa, durante cinco minutos.

e) leitura da reação.

Examinam-se os soros para verificação de aglutinação, comparando-os com os resultados padrões.

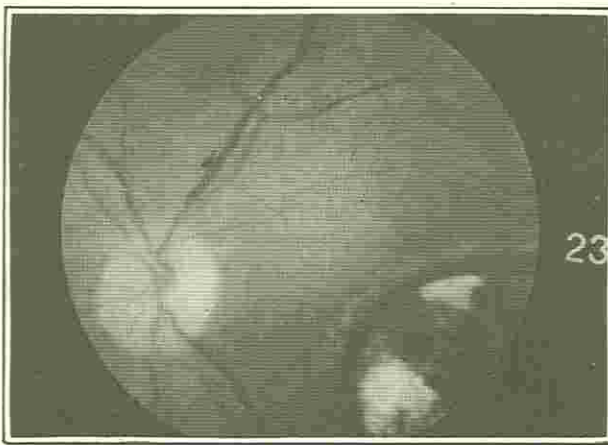


Figura 2 — Retinocoroidite.

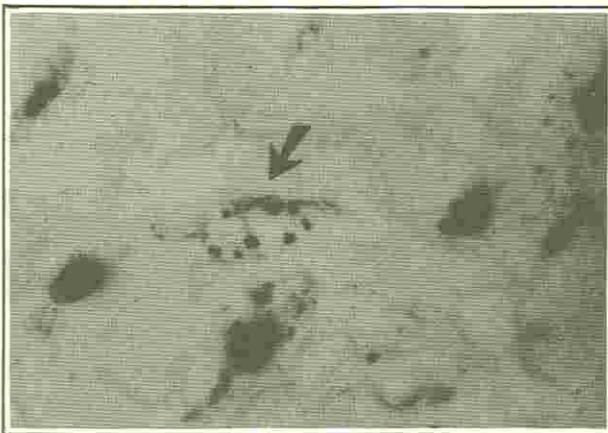


Figura 3 — Córion — presença de trofozoítos de *Toxoplasma gondii*. Hematoxilina eosina, X850.

São considerados positivos (IgM anormalmente elevada) os soros que apresentarem aglutinação durante os primeiros cinco minutos que se seguem à mistura.

Utilizando-se a diluição recomendada para o soro do cordão umbilical (1/11) a positividade da reação revelada pela aglutinação indica níveis de IgM $\geq 33,0$ mg/100 ml de sangue.

Como a taxa máxima normal de IgM no sangue do cordão umbilical, aceita pela maioria dos autores, é de 20,0 mg/100,0 ml de sangue (2, 4), utilizamos, em nosso trabalho, uma diluição menor do soro do cordão umbilical, a fim de desloarmos a sensibilidade do teste de 33,0 mg/100,0 ml para 20,0 mg/100,0 ml de sangue ($5,0 \mu$ l/20,0 μ l ou seja 1/5).

Para controle e avaliação do Rapi Tex IgM, realizamos dosagens de IgM no sangue do cordão umbilical desses recém-nascidos (método da imunodifusão radial (8), utilizando placas Tripartigen Hoescht) e exame anatomopatológico (macro e microscopia) das placentas.

O exame macroscópico das placentas foi realizado pelo método de Benirschke, com avaliação anterior dos dados obstétricos e a história neonatal.

O exame microscópico foi executado em seis blocos de tecido placentário, retirados do cório leve, da zona de inserção do cordão, de uma das margens e de outros locais que apresentassem anormalidade macroscópica.

A coloração pela hematoxilina-eosina foi utilizada rotineiramente, recorrendo-se a colorações especiais, quando necessárias à elucidação das lesões detectadas (Kossa para os sais de cálcio, Perl na identificação do pigmento férrico, Shorr, Giemsa e ácido periódico de Schiff para inclusões virais e certos microrganismos, Gram para identificação de bactérias e Levaditi e Whartin-Starry para identificação de treponema).

RESULTADOS

Noventa e seis recém-nascidos (19,2%) apresentaram aglutinação ao Rapi Tex IgM, sendo considerados de alto risco para infecções pré-natais. Destes, 65 foram submetidos a dosagens de IgM no sangue do cordão umbilical,

sendo que em 34 (52,3%) as taxas de IgM foram iguais ou superiores a 33,0 mg/100 ml de sangue; em 24 (36,9%) os teores se situaram entre 20,0 e 33,0 mg/100 ml

TABELA I

Teores de IgM no sangue do cordão umbilical em recém-nascidos submetidos ao Rapi Tex IgM			
CASO Nº	IgM mg/100,0 ml	CASO Nº	IgM mg/100,0 ml
1	40,0	202	48,0
58	23,0	286	42,5
61	42,5	287	40,0
80	40,0	* 288	15,0
87	68,0	289	27,0
89	46,0	292	29,0
92	51,0	295	21,0
96	28,0	297	32,0
104	42,0	299	16,5
129	44,0	307	36,0
137	46,0	327	51,0
147	51,0	332	40,0
157	46,0	335	40,0
162	21,0	338	40,0
180	21,0	353	42,5
184	36,0	354	40,0
186	25,0	355	58,0
188	55,0	358	23,0
191	17,0	* 359	15,0
220	19,0	365	23,0
221	31,0	406	31,0
222	28,0	417	46,0
226	31,0	424	28,0
229	29,0	431	19,0
232	75,0	438	17,0
246	35,0	439	21,0
251	28,0	443	29,0
252	48,0	446	31,0
257	31,0	450	17,0
258	19,0	454	31,0
260	126,0	461	28,0
267	171,0	472	40,0
268	44,0	477	40,0
269	42,5	* 480	19,0

* Rapi Tex negativos

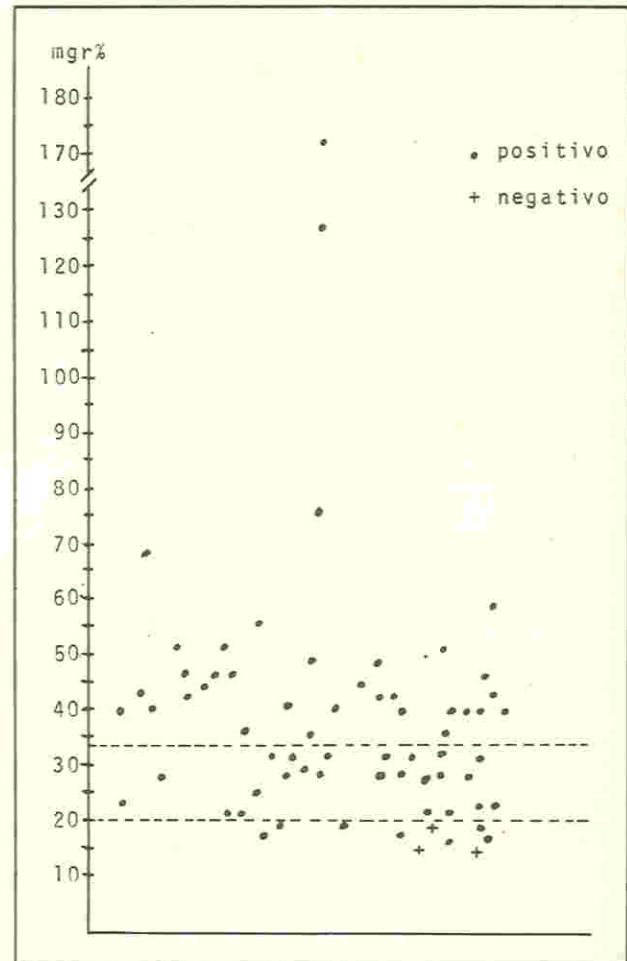


Gráfico 1 — Teores de IgM no sangue do cordão umbilical de recém-nascidos submetidos ao Rapi Tex IgM.

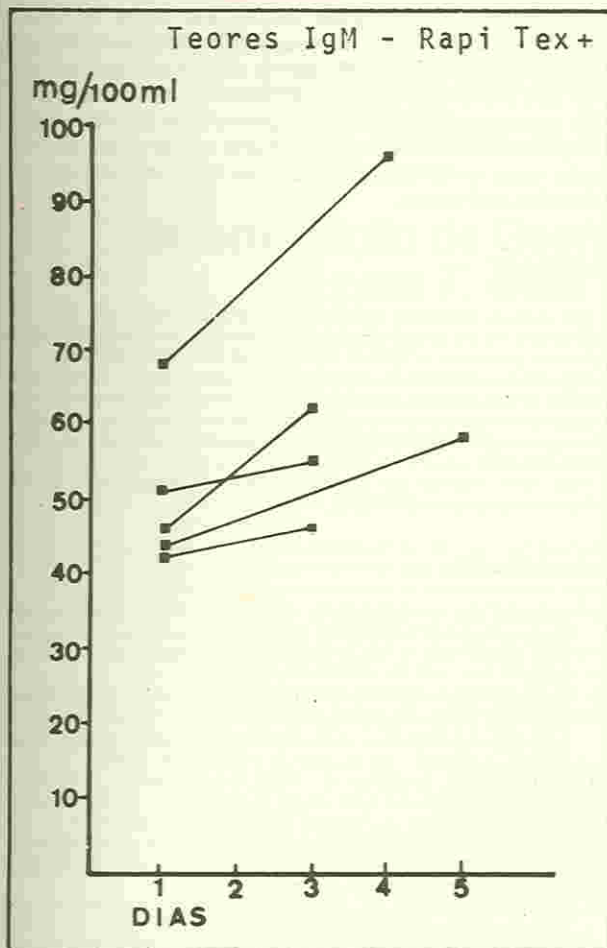


Gráfico 2 — Teores de IgM em casos Rapi Tex IgM positivos.

QUADRO 1

Exame anatomopatológico de placentas de RN de alto risco para infecções pré-natais (Rapi Tex IgM positivos)	
Placentite hematogênica específica	19
toxoplasmose	2 casos
citomegalia	1 caso
rubéola	1 caso
viral	15 casos
Placentite hematogênica de causa indeterminada	18
Placentite ascendente	2
Placentas sem sinais de infecção	0
TOTAL DE PLACENTAS EXAMINADAS	39

QUADRO 2

Exame anatomopatológico de placentas de RN Rapi Tex negativos	
Placentite hematogênica de causa indeterminada	15
Placentite provavelmente de origem viral	5
Placentite ascendente	8
Placentas sem sinais de infecção	5
TOTAL DE PLACENTAS EXAMINADAS	33

de sangue; 7 (10,8%) apresentaram níveis abaixo de 20,0 mg/100 ml de sangue (Tabela 1, Gráfico 1). O teor médio de IgM encontrado para os casos Rapi Tex IgM positivos foi de 38,85 mg/100,0 ml de sangue, sendo o desvio-padrão de $\pm 12,58$ (desprezamos para esses cálculos os casos n^{os} 260 e 267 que, por apresentarem teores de IgM elevadíssimos, foram considerados como de transfusão materno-fetal, embora no caso 267 tenha ocorrido óbito).

Três casos Rapi Tex IgM negativos, submetidos também a dosagens de IgM no sangue do cordão umbilical,

evidenciaram níveis abaixo de 20,0 mg/100,0 ml de sangue (Tabela 1, Gráfico 1).

Em cinco casos Rapi Tex IgM positivos as dosagens de IgM foram repetidas no sangue do recém-nascido em dias subseqüentes, a fim de observarmos o comportamento dos títulos, o que confirmou o aumento da imunoglobulina (Gráfico 2).

Vinte e oito crianças (sintomáticas ou não) selecionadas pelo teste estão tendo acompanhamento clínico e laboratorial, tendo sido firmado diagnóstico de toxoplasmose congênita em três casos (n^{os} 4, 157 e 186), citomegalia congênita em dois (n^{os} 12 e 61), rubéola congênita em um (n^o 129).

O acompanhamento clínico de alguns recém-nascidos assintomáticos por ocasião do nascimento, mas selecionados pelo teste, evidenciou, em alguns deles, sinais sugestivos de infecção, tais como hepatomegalia, dificuldade em ganhar peso.

Em três casos Rapi Tex IgM positivos houve ocorrência de óbito, sendo a existência de infecção confirmada nos submetidos à autópsia (casos n^{os} 218 e 267).

Setenta e duas placentas (39 referentes a recém-nascidos Rapi Tex IgM positivos e 33 a negativos) foram submetidas a exame anatomopatológico (macro e microscopia).

Todas as 39 placentas de recém-nascidos Rapi Tex IgM positivos evidenciaram sinais de infecção. Em 19 observaram-se lesões compatíveis com placentite hematogênica (duas por toxoplasmose, uma por citomegalovírus, uma por vírus rubéólico e 15 provavelmente por vírus não identificados ao exame morfológico); placentite hematogênica de causa não determinada em 18 casos e em dois casos placentite ascendente (Quadro 1).

Entre os 33 recém-nascidos Rapi Tex IgM negativos que tiveram a placenta estudada, cinco não evidenciaram sinais de infecção placentária; lesões de placentite hematogênica de causa não determinada foram evidenciadas em 15; placentite provavelmente de origem viral em cinco outros e infecção ascendente em oito (Quadro 2).

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

As dosagens de IgM executadas no sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos (tanto dos Rapi Tex IgM positivos como dos negativos) se mostraram concordantes com os resultados do teste, exceto em sete casos Rapi Tex IgM positivos (n^{os} 191, 220, 258, 299, 431, 438 e 450, que apresentaram respectivamente IgM = 17,0; 19,0; 19,0; 16,5; 19,0; 17,0 e 17,0 mg/100 ml de sangue).

Importante referir que em alguns casos o Rapi Tex IgM foi o primeiro elemento a chamar a atenção para esse problema. Assim o caso n^o 4 (RN de R.M.F.P.) não apresentou anormalidades durante a permanência no berçário, mas pela positividade da reação foi reavaliado clinicamente, com exames especializados, sendo diagnosticado retinocoroidite, tanto na criança como na mãe (Fig. 2). A placenta ao primeiro exame demonstrou infecção hematogênica; pesquisa mais minuciosa evidenciou a presença de trofozoítos nas membranas e cordão, sendo o diagnóstico de toxoplasmose confirmado pela sorologia (imunofluorescência para toxoplasmose). Tratamento específico para toxoplasmose determinou cicatrização das lesões observadas. Atualmente a criança está com dois anos de idade; apresenta déficit visual, mas o exame neurológico não evidencia retardo psicomotor.

Todas as placentas de recém-nascidos selecionados pelo teste demonstraram lesões comprovando infecção, justificando assim a maior produção de IgM pelo feto, em resposta a estímulo antigênico, detectada pela positividade da reação de triagem.

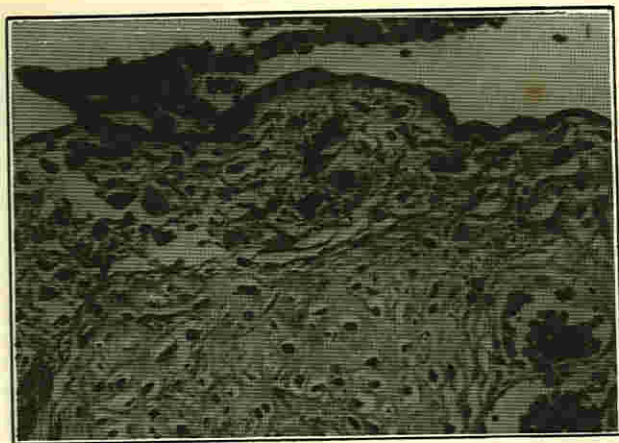


Figura 4 — Vilosidade placentária exibindo vaso recanalizado, hialinizado, do estroma e células degeneradas cuja morfologia se assemelha à célula citomegálica cercada por depósitos mineralizados. Hematoxilina eosina. X560.

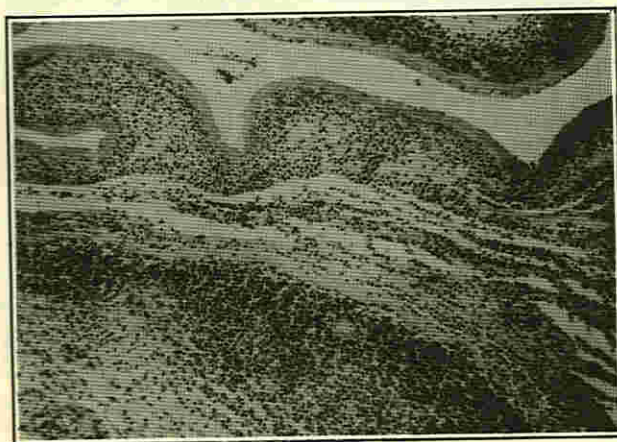


Figura 5 — Córion leve, denso e difuso-infiltrado polinuclear na decidua, córion e âmnio. Hematoxilina eosina. X125.

Em alguns casos Rapi Tex IgM negativos evidenciaram-se lesões placentárias. Cabe entretanto lembrar ser a placenta barreira protetora, impedindo, em certos casos, que os agentes nócios atinjam o feto, fato comprovado pela maior riqueza de microrganismos na placenta que nos tecidos fetais (7). Apenas o acompanhamento clínico e laboratorial destas crianças por tempo prolongado poderia elucidar este aspecto da questão.

Entretanto, a correlação encontrada entre os casos Rapi Tex IgM positivos, as respectivas dosagens de IgM no sangue do cordão umbilical, o exame anatomopatológico das placentas, o acompanhamento clínico com exames especializados em alguns casos e os resultados das autópsias em outros, nos permitem opinar pela validade deste teste simplificado (Rapi Tex IgM) na triagem de infecções pré-natais.

SUMMARY

The authors submitted 500 newborns to a simplified test (Rapi Tex IgM) which, by the simple agglutination reaction, presented abnormally increased quantities of IgM in the blood of the umbilical cord.

The results obtained by this selection were evaluate through IgM dosages of the blood in the umbilical cord, morphological examination of placentas (macro and microcopy) medical and laboratory follow-up of some cases and anatomopathologic examination of cases in which death occurred.

They have reached the conclusion that the test is valid for the selection of pre-natal infections.

BIBLIOGRAFIA

1. ALFORD, C.A. Jr.; STAGNO, S.; REYNOLDS, W.D.: Toxoplasmosis: Silent congenital infection in infections of the fetus and the newborn infant. Vol. 3. New York. Saul Krugman and A. Gershon, 1975.
2. ALFORD, C.A.; FOFT, J.W.; BLANDENSHIP, W.J.; CASSDY and BENTON, W. Jr.: Subclinical central nervous system disease of neonates. A prospective study of infants born with increased levels of IgM. *J. Pediatr.*, 75 (6, part 2):1167-1178, 1969.
3. GOTOFF, S.P.; GADZALA, C.; YING, R.L.; WENDELL, P.W.: Relationship of neonatal IgM values to congenital abnormalities and mental retardation. *J. Pediatr.*, 78 (6):1020-1025, 1971.
4. HANSHAW and DUDGEON, J.A.: Viral diseases of the fetus and newborn (Major problems in clinical pediatrics: vol. 6) Philadelphia W. B. Saunders Company, 1978.
5. KRECH, U.H.; JUNG, M.; JUNG, F.: Cytomegalovirus infections of man. S. Karger A.G., 1971.
6. MILLER, M.J.; SUNSHINE, P.J. and REMINGTON, J.D.: Quantitation of cord serum IgM and IgA as a screening procedure to detect congenital infections. Results in 5006 infants. *J. Pediatr.*, 75 (6, part 2):1287-1291, 1969.
7. MONIF, G.R.; AVERY, G.B.; KORONES, S.B. and SEVER, J.L.: Post mortem isolation of rubella virus from three children with rubella syndrome defects. *Lancet* 1:723-724, 1965.
8. PEREIRA, J.; CALLADO, A.N.A.; CONSTANCIO, W.F.; LASCHTER, D.; VIEIRA, A.A.: Determinação quantitativa de imunoglobulinas (Imunodifusão radial). *Rev. Med. Est. Guanab.* 38 (2):153-161, 1971.
9. STERNS H.; BOOTH, J.D.; ELEK, S.D.; FLECK, D.G.: Microbial causes of mental retardation. The role of the pre-natal infections with cytomegalovirus, rubella virus and toxoplasma. *Lancet*, 30:443-447, 1969.
10. STIEHM, E.R.; AMMAN, A.J. and CHERRY, J.D.: Elevated cord macroglobulins in the diagnosis of intra uterine infection. *N. Engl. J. Med.* 275:971-977, 1966.

GRUPO DE INCENTIVO AO ALEITAMENTO MATERNO

A atual composição do grupo de incentivo ao aleitamento materno, no Rio de Janeiro, é a seguinte: Coordenador: Dr. José Dias Rego, Membros: Athayde Fonseca, David Sarmiento de Barros, Dilson da Costa Bonfim, Fernando Estelita Lins, Humberto Gueiros, Humberto Paiva, Jean G. Ruffier, José Cortines Linares, Maria Lelitte Pereira, Maria do Rosário Souza, Maria Rita Galotti, Maria Teresa Maldonado, Nilo Breyer Filho, Octávio Amaury G. Pereira, Paulo Belfort, Pedro Cesar Souza Paiva, Sophia Rodrigues, Tales Pereira Nunes, Washington Luiz Abuassi.