

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PALOMA GLAUCA CORRÊA BRANDÃO

**INFECÇÃO POR CMV ATRAVÉS DA TRANSMISSÃO PELO LEITE MATERNO
EM RECÉM NASCIDOS PRETERMOS MENORES DE 32 SEMANAS: ESTUDO DE
COORTE.**

Rio de Janeiro

2020

PALOMA GLAUCA CORRÊA BRANDÃO

**INFECÇÃO POR CMV ATRAVÉS DA TRANSMISSÃO PELO LEITE MATERNO
EM RECÉM NASCIDOS PRETERMOS MENORES DE 32 SEMANAS: ESTUDO DE
COORTE.**

Dissertação apresentada ao programa de
Mestrado Profissional em Pesquisa
Clínica do Instituto Nacional de
Infecologia Evandro Chagas como
requisito à obtenção do título de
Mestre em Pesquisa Clínica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Elisabeth
Lopes Moreira.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Marília Santini
de Oliveira

Rio de Janeiro

2020

Correa Brandão, Paloma Glauca.

Infecção por *CMV* através da transmissão pelo leite materno em recém-nascidos pretermos menores de 32 semanas: estudo de coorte. / Paloma Glauca Correa Brandão. - Rio de Janeiro, 2020.
52 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, 2020.

Orientadora: Maria Elisabeth Lopes Moreira.

Co-orientadora: Marília Santini de Oliveira.

Bibliografia: f. 41-44

1. Leite Humano. 2. Aleitamento Materno. 3. Citomegalovírus. 4. Recém-nascido Prematuro. I. Título.

PALOMA GLAUCA CORRÊA BRANDÃO

**INFECÇÃO POR CMV ATRAVÉS DA TRANSMISSÃO PELO LEITE MATERNO
EM RECÉM NASCIDOS PRETERMOS MENORES DE 32 SEMANAS: ESTUDO DE
COORTE.**

Dissertação apresentada ao programa de
Mestrado Profissional em Pesquisa
Clínica do Instituto Nacional de
Infectologia Evandro Chagas como
requisito à obtenção do título de
Mestre em Pesquisa Clínica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Elisabeth
Lopes Moreira.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Marília Santini
de Oliveira

Rio de Janeiro, 28 de maio de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Zilton Farias Meira de Vasconcelos (Presidente e revisor)
Instituição: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do
Adolescente Fernandes Figueira (IFF)

Dra. Elizabeth de Souza Neves (membro da banca)
Instituição: Fundação Oswaldo Cruz

Dra. Zeni Carvalho Lamy (membro da banca)
Instituição: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Dr. Arnaldo Costa Bueno (suplente)
Instituição: Universidade Federal Fluminense (UFF)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me iluminar, proteger e colocar sempre pessoas especiais em minha vida;

A Nossa Senhora de Fátima, por sempre abençoar e iluminar meus caminhos;

À minha orientadora Dra. Maria Elisabeth Lopes Moreira, pela oportunidade de desenvolver esse estudo e todo aprendizado adquirido;

À minha coorientadora Dra. Marília Santini, por toda compreensão e apoio durante esse período;

Aos membros da banca examinadora: Drs. Zilton Vasconcelos, Elizabeth Neves, Zeni Lamy e Arnaldo Bueno, por aceitarem participar da avaliação do meu trabalho;

À minha querida amiga Yasmin Villarosa, a quem agradeço especialmente por todo companheirismo e amizade durante esses anos. Participando de todas as realizações durante este período;

A toda equipe do laboratório de alta complexidade do IFF, por estar sempre disposta a ajudar e contribuir com os resultados;

A toda equipe da UTI neonatal do IFF e do hospital Maria Amélia, por toda disponibilidade e apoio durante esses anos;

Às principais enfermeiras que contribuíram com toda a coleta dos dados necessários para esse trabalho, especialmente: Michelli Freitas, Swya Xavier e Patricia. Muito obrigada por todo apoio, pois, com toda certeza, sem a ajuda de vocês jamais alcançaria o objetivo;

Aos meus queridos pais: Lourdes Bernadete e José Luiz, por estarem sempre ao meu lado, terem incentivado meus estudos e acreditado em mim. Meu verdadeiro “porto seguro”. A minha gratidão e amor por vocês é infinito;

Aos meus irmãos, Dafne e Luiz Fernando, os quais são meus primeiros e eternos amigos. Só tenho a agradecer ter passado com vocês e compartilhado todos os momentos mais importantes da vida, com todo carinho e na torcida nesse período;

Ao meu amigo, cúmplice, parceiro, Brunno Ribeiro Lorenzoni, por todo apoio, amizade e paciência. Agradeço por me incentivar em todos os momentos de preocupação, por ter ajudado nos difíceis e comemorado nos felizes;

Aos meus amigos e familiares que compreenderam a minha ausência em inúmeros momentos e que foram solidários e compreensivos durante este período;

Em especial, a todas as mães que aceitaram participar da nossa pesquisa. Que este trabalho favoreça o aleitamento materno e a saúde materno-infantil em nosso país;

Ao INI, pela acolhida nessa trajetória do Mestrado profissional; e

A todas as pessoas que possibilitaram a concretização desse trabalho.

RESUMO

Introdução: O leite materno é considerado o melhor e mais importante alimento para os recém-nascidos em qualquer idade gestacional. Em recém-nascidos pretermos o leite materno pode ser ainda mais importante quando se considera a sua vulnerabilidade imunológica e gastrointestinal. Após a publicação de um artigo que envolveu recém-nascido menor que 30 semanas de mães soro positivas em uma população de São Paulo, evidenciou uma transmissão de CMV pelo leite em cerca de 15% dos recém-nascidos. Com isso algumas unidades neonatais passaram a contraindicar o uso do leite materno cru. **Objetivo:** Avaliar a taxa de positividade do CMV no leite materno e a taxa de transmissão por essa via nos recém-nascidos com menos de 32 semanas de gestação. **Métodos:** Estudo longitudinal tipo coorte, realizado entre março de 2019 a fevereiro de 2020, com recém-nascidos com idade gestacional ≤ 32 semanas, internados na UTI Neonatal das maternidades do Instituto Fernandes Figueira e Maria Amélia Buarque de Hollanda, situadas na cidade do Rio de Janeiro. A investigação foi realizada através dos exames pré-natais sorológicos da mãe e ao nascimento no sangue do cordão do recém-nascido. Para identificar o CMV nas amostras foram usadas técnicas de PCR em tempo real. Ao nascimento, foram coletados dos recém-nascidos saliva e urina, e também semanalmente, até 45 dias de vida do recém-nascido ou até a alta hospitalar. As análises estatísticas consideraram exames repetidos. **Resultados:** Entre os 41 recém-nascidos admitidos no estudo, (18) 43,9% testaram positivos para urina em algum momento durante a internação. Em relação à positividade para CMV no leite materno, (19) 46,3% apresentaram pelo menos uma amostra positiva. Houve concordância entre os exames positivos apenas em 11 crianças. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos recém-nascidos em relação às características clínicas, naqueles que evoluíram com exames positivos ou na urina. **Conclusão:** Embora a maioria das mulheres soropositivas elimine CMV no leite, a infecção pós-natal sintomática em pretermos ocorre com pouca frequência, mostrando que o perfil de transmissão pelo leite humano pode ser mediado por outros fatores além da presença do vírus no leite materno.

Palavras-chaves: Leite Humano; Aleitamento Materno; Citomegalovírus; Recém-nascido Prematuro.

ABSTRACT

Introduction: Breast milk is considered the best and most important food for newborns at any gestational age. In preterm infants, breast milk can be even more important when considering their immunological and gastrointestinal vulnerability. After the publication of a paper that involved newborns <30 weeks of serum positive mothers in a population in São Paulo, CMV transmission through milk occurred in 15% of preterm infants, and then some neonatal units started to contraindicate the use of raw breast milk. Goal: To evaluate the rate of CMV positivity in breast milk and the rate of transmission by this route in newborns less than 32 weeks of gestation. Methods: Longitudinal cohort study, carried out between March 2019 and February 2020, with newborns with gestational age ≤ 32 weeks, admitted to the Neonatal ICU of the maternities of the Instituto Fernandes Figueira and Maria Amélia Buarque de Hollanda, located in the city of Rio de Janeiro. The investigation was carried out through the mother's prenatal serological exams and at birth in the newborn's cord blood. To identify the CMV in the samples, real-time PCR techniques were used. At birth, saliva and urine were collected from the newborns, and also weekly, up to 45 days of life of the newborn or until hospital discharge. Statistical analyzes (ANOVA and chi square) considered repeated tests. Results: Among the 41 newborns admitted to the study, (18) 43.9% tested positive for urine at some point during hospitalization. Regarding positivity for CMV in breast milk, (19) 46.3% had at least one positive sample. There was agreement between the positive tests only in 11 children. There were no statistically significant differences in newborns in relation to clinical characteristics, in those who evolved with positive tests or negative in urine. Conclusion: Although most CMV -positive women transmit CMV in milk, symptomatic postnatal infection in preterm infants occurs infrequently, showing that the profile of transmission through human milk can be mediated by other factors besides the presence of the virus in breast milk.

Key-words: Milk, Human; Breast Feeding; Cytomegalovirus; Infant, Premature.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
3. JUSTIFICATIVA	22
4. OBJETIVO GERAL	24
5. OBJETIVO ESPECÍFICO	24
6. MÉTODOS	25
7. RESULTADOS	30
8. DISCUSSÃO	35
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	45
APÊNDICE 2. Questionário	51

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

A prematuridade é um problema que necessita de uma atenção especial, ocorre em mais de um em cada dez nascimentos, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade entre recém-nascido, com cerca de 1,1 milhão de óbitos por ano no mundo (BICK, 2012). A taxa de prematuridade no Brasil é de 11,5%, quase duas vezes superior à observada nos países europeus, sendo que 74% desses prematuros são tardios, cuja idade gestacional encontra-se entre 34 a 36,6 semanas (LEAL et al., 2016).

Com essa alta taxa de partos prematuros, observamos cada vez mais a importância do aleitamento materno para estes recém-nascidos que estão mais vulneráveis a infecções, devido à sua imaturidade. De fato, o leite materno promove vários efeitos positivos a curto e longo prazo na vida do ser humano, contribuindo assim para um melhor desenvolvimento do sistema imunológico e modificando a suscetibilidade às doenças (BARDANZELLU; FANOS; REALI, 2017).

Entretanto, o leite materno em alguns momentos pode não ser tão seguro, principalmente devido à possível presença de vírus maternos, os quais podem ser eliminados e transferidos para o recém-nascido amamentado. Entre estes, o citomegalovírus (CMV) tem sido citado como podendo levar a uma doença grave e aguda, principalmente em caso de bebês muito prematuros. Portanto, estabelecer estratégias para compreender melhor esta possível transmissão e consequentemente promover ações para a inativação da concentração do vírus no leite materno sem graves consequências, poderia representar uma opção benéfica para os pretermos (BARDANZELLU; FANOS; REALI, 2019).

O Citomegalovírus (CMV) é uma infecção onipresente entre humanos (PASS; ANDERSON, 2014) sendo a principal causa de infecção adquirida perinatal no mundo (PILAR et al., 2015). A infecção pelo CMV pode ser transmitida aos recém-nascidos no período intrauterino, perinatal ou pós-natal. A amamentação é a via mais comum para a transmissão do CMV no período pós-natal e as taxas maternas de soropositividade podem variar de 51,6% a 100% (JIM et al., 2015). Mais de 96%

dessas gestantes podem ter reativação viral durante a lactação com derramamento de CMV no leite materno, mas em geral, não promove o aparecimento de sinais de infecções no recém-nascido (PILAR et al., 2015).

A transmissão do CMV para bebês a termo foi inicialmente descrita como uma forma de imunização natural, associada a sinais mínimos ou ausentes de doença. Mas, em casos de recém-nascidos pretermos, a infecção adquirida pelo leite materno, pode se tornar uma doença grave (HAMPRECHT; GOELZ, 2017). Esta associação levou a uma recomendação de prudência na alimentação usando leite materno cru para prematuros extremos: menores de 1000g ao nascer e/ou menores de 30 semanas de idade gestacional (YAMAMOTO et al., 2013).

Entretanto, ao contraindicar o uso do leite da própria mãe para estes prematuros, as unidades neonatais poderão estar privando estes recém-nascidos ao suporte dos benefícios do leite materno e posteriormente da amamentação, aumentando o risco de desenvolvimento das principais causas de morbidade, mortalidade e sequelas a longo prazo nessas crianças como, sepse, meningite e enterocolite necrosante (NEC).

A enterocolite necrosante continua sendo as principais causas de morbimortalidade entre os bebês da unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN), afetando até 10% dos bebês nascidos prematuros. Relatos de casos identificaram uma associação entre infecção por CMV e patologia gastrointestinal neonatal, incluindo enterocolite, ulceração entérica, estenose colônica, síndrome do compartimento abdominal e NEC (PANESSO-GÓMEZ et al., 2019).

Assim, todos os benefícios da amamentação parecem compensar os riscos da transmissão do CMV no leite materno, mas ainda faltam estudos que confirmem os resultados relacionados à infecção do recém-nascido através do leite materno. O objetivo deste projeto é avaliar a taxa de positividade do CMV no leite materno e a taxa de transmissão por esta via para os recém-nascidos menores de 32 semanas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância do leite materno:

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a alimentação adequada no primeiro ano de vida do recém-nascido é a prática do aleitamento materno exclusivo até os seis meses de idade. A nutrição insuficiente e/ou inadequada é reconhecida como o principal determinante da desnutrição infantil (ALLEO; SOUZA; SZARFARC, 2014).

O início precoce da amamentação na primeira hora de vida proporciona benefícios imunológicos e psicossociais aos recém-nascidos, fortalece o vínculo mãe-filho e aumenta a chance da criança receber o colostro, que é altamente nutritivo, de fácil digestão e apresenta propriedades imunológicas significativas para essa fase da vida. Portanto, o aleitamento materno até uma hora após o parto é considerado um importante fator protetor contra a mortalidade neonatal (BANDEIRA DE SÁ et al., 2016).

Dados da Pesquisa sobre a Prevalência do Aleitamento Materno nas Capitais dos Estados Brasileiros e no Distrito Federal (DF) mostraram que 67,7% das crianças amamentaram na primeira hora de vida nas cidades brasileiras em 2008 (BRAZIL; DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS ESTRATÉGICAS, 2009).

O leite humano é um alimento rico e completo que é essencial para o correto desenvolvimento do organismo do bebê (BALLARD; MORROW, 2013). A microbiota do leite humano tem um papel central e fundamental ao estímulo do sistema imunológico dos recém-nascidos, contribuindo para a criação da primeira microbiota intestinal transitória com fortes atividades imunomoduladoras (TOSCANO et al., 2017).

Níveis ótimos de aleitamento materno poderiam prevenir mais de 820.000 mortes de crianças menores de cinco anos a cada ano em todo o mundo, bem como evitar 20.000 mortes de mulheres por câncer de mama. Acredita-se que o aumento da prevalência e duração da amamentação, observada desde a década de 1970, tenha contribuído significativamente para a melhora dos indicadores de saúde

infantil no Brasil, reduzindo, por exemplo, internações por diarreia e infecções respiratórias em menores de um ano no país (BOCCOLINI et al., 2017).

O aleitamento materno é a mais sábia estratégia natural de vínculo, afeto, proteção e nutrição para a criança e inúmeras são suas vantagens. Para a mãe, há uma possível proteção contra câncer de mama e ovário; e para a criança, os principais benefícios incluem a proteção das vias respiratórias e do trato gastrointestinal contra doenças infecciosas. Além disso, promove ganho de peso adequado, é livre de contaminação, promovendo proteção imunológica (PAIVA et al., 2013).

O leite materno não é apenas uma fonte nutricional completamente adaptada para o recém-nascido, mas também uma impressionante variedade de moléculas imuno-ativas que protegem contra infecções e estrutura às respostas imunes das mucosas. Eventos decisivos podem ser modulados durante os primeiros meses de vida do recém-nascido com potenciais efeitos em longo prazo na saúde, aumentando a importância da amamentação como uma grande influência no desenvolvimento do sistema imunológico e modificando a suscetibilidade às doenças (VIEIRA BORBA; SHARIF; SHOENFELD, 2018).

Os fatores que englobam toda a proteção dada ao recém-nascido e a mãe está no fato de que a composição do leite materno contém células vivas como macrófagos, linfócitos, imunoglobulinas (IgA e IgG), proteínas, gorduras, colesterol, carboidratos (lactose), ferro, zinco, cálcio, fósforo, potássio, sódio, vitaminas D, K e E, flúor, hormônio da tireóide, lisozimas, lactoferrina B12, fator bifido, fator antiestafilocócico, leucócitos, interferon, lactoperoxidase e água (AZEVEDO; CUNHA, 2013).

Por tudo isso que a amamentação garante às crianças os nutrientes necessários para seu crescimento e desenvolvimento saudável e seus benefícios podem, ainda, ser vistos além da primeira infância. Um estudo recente realizado em Pelotas, Rio Grande do Sul, mostrou que crianças que foram amamentadas por 12 meses, ou mais, apresentaram maior quociente de inteligência, escolaridade e renda aos 30 anos de idade, comparadas às crianças que foram amamentadas por menos de um ano (VICTORA et al., 2015).

2.2 Citomegalovírus:

O citomegalovírus humano (CMV) é um herpesvírus altamente prevalente que infecta entre 30% e 100% das pessoas em populações em todo o mundo. Geralmente considerado uma infecção persistente relativamente benigna, o CMV é capaz de causar doença grave nos lactentes imunocomprometidos e em gestantes com infecção ativa (VAN BOVEN et al., 2017).

O CMV é um agente ubíquo, que acomete pessoas de todas as classes sociais de diferentes raças e faixas etárias, sendo altamente prevalente principalmente em populações dos continentes sul-americano e africano (LOBATO-SILVA, 2016). Os dados soroepidemiológicos de diferentes regiões do mundo demonstram que a infecção pelo CMV é frequente em comunidades de baixo nível socioeconômico. Esses dados também indicam que existe uma relação proporcionalmente inversa entre a suscetibilidade e o *status* socioeconômico, ou seja, grupos populacionais com nível socioeconômico elevado apresentam maior suscetibilidade e, conseqüentemente, menor imunidade ao vírus, ao passo que indivíduos de baixo poder aquisitivo apresentam maior imunidade e menor suscetibilidade à doença (LOBATO-SILVA, 2016).

A elevada frequência de anticorpos na população economicamente menos favorecida está relacionada aos maus hábitos de higiene, às péssimas condições de saneamento básico, à moradia e à educação precária (MENDRONE JUNIOR, 2010). Certamente, que o conjunto desses fatores, associados à biologia viral e à deficiência imunológica, contribuem para a manutenção do perfil epidemiológico do vírus na população.

A infecção do CMV pode ocorrer tanto por vias naturais como iatrogênicas. E a aquisição do vírus inicia desde a infância, aumentando proporcionalmente com a idade. O vírus é considerado uma das principais causas de infecção congênita e perinatal, enquanto que no período pós-natal é grave para indivíduos com imunodeficiência (YAMAMOTO et al., 2011).

O CMV é capaz de infectar a maioria das células do corpo e atuar no citoplasma e no núcleo das células infectadas, formando inclusões (SCHLEISS, 2011).

A transmissão primária do CMV pode ser intraútero, como resultado de infecção materna, ou infecção recorrente resultante de reinfecção com uma nova cepa de CMV ou reativação de vírus latente. O CMV também pode ser adquirido no período perinatal por meio de exposição a secreções genitais maternas infectadas durante o parto, ou pós-parto por transfusão sanguínea ou leite materno infectado. A infecção por CMV adquirida após o nascimento não é comum em recém-nascidos a termo, presumivelmente por causa da proteção da transferência passiva de anticorpos maternos que ocorre principalmente no terceiro trimestre. Entretanto, bebês nascidos, menores de 32 semanas de idade gestacional ou com peso ao nascer menor 1500g, podem estar em maior risco de desenvolver a doença pós-natal, caracterizada por hepatopatia, trombocitopenia, neutropenia, petéquias, síndrome do desconforto respiratório, e síndrome semelhante à sepse (LANZIERI et al., 2013).

O CMV causa uma infecção primária e depois permanece latente no corpo. Apesar de causar uma infecção primária normalmente inofensiva, o CMV pode ser fatal para pacientes imunocomprometidos e causar sérios danos fetais. Assim, a infecção em mulheres grávidas assume uma alta importância (NADDEO; PASSOS-CASTILHO; GRANATO, 2015). A infecção pode ser assintomática ou causar perda auditiva neurossensorial, microcefalia, hidrocefalia e comprometimento neurológico (EHLINGER et al., 2011).

As crianças são consideradas importantes na cadeia de transmissão viral, pois excretam o vírus pela urina e saliva por tempo indeterminado. Enquanto que, na fase adulta, os jovens são os principais transmissores da doença, pois a via sexual passa a ser a principal forma de transmissão horizontal (LOBATO-SILVA, 2016).

A detecção de CMV na urina (por cultura ou PCR) nos primeiros 14 dias de vida é o método diagnóstico mais utilizado, considerando que as manifestações clínicas são geralmente inespecíficas e que a detecção de IgM anti-CMV por ELISA pode mostrar resultados negativos em até 40% dos recém-nascidos infectados. A PCR-CMV utilizando amostras de sangue seco apresenta uma sensibilidade de aproximadamente 65 a 85%, dependendo dos métodos de extração e amplificação do DNA utilizados, também possui alta especificidade para o diagnóstico de infecção congênita, embora possa mostrar resultados negativos para pacientes com baixa carga viral (YAMAMOTO et al., 1998) . Recentemente, amostras líquidas ou secas

de saliva obtidas no terceiro dia de vida também foram utilizadas. Os recém-nascidos pretermos extremos possuem, inerentemente, maior risco de sequelas neurológicas, e esse risco aumenta na presença de infecção congênita pelo CMV (MIURA et al., 2006). O conhecimento da incidência da infecção por CMV neste subgrupo de pacientes é necessário para prever incapacidades que possam surgir, bem como para fornecer tratamento precoce, se necessário (BALCELLS et al., 2016).

A precocidade na aquisição do vírus também está relacionada à transmissão durante a gestação, chamada de vertical ou pré-natal. Naddeo et al (2015) afirmam que essa forma de infecção se desenvolve por meio da placenta, ocasionando a infecção do feto. Se a transmissão materno-fetal ocorrer por infecção primária materna, a infecção congênita tem grandes possibilidades de causar graves prejuízos para o feto em desenvolvimento, principalmente, se acontecer no primeiro trimestre de gravidez.

Embora a infecção por citomegalovírus não tenha cura e não disponha de vacina, o diagnóstico da infecção é importante para orientar o tratamento correto e possibilitar a detecção precoce de qualquer sequela (NADDEO; PASSOS-CASTILHO; GRANATO, 2015).

No Brasil, a prevalência de mulheres positivas para CMV é alta (cerca de 96%), o que levou o Ministério da Saúde a retirar o exame sorológico para CMV dos exames indicados trimestralmente no prenatal (MIRANDA, 2012).

2.3 Transmissão do Citomegalovírus no leite materno:

A amamentação é uma via comum para a transmissão do CMV em prematuros, particularmente nas populações com alta soroprevalência do CMV e altas taxas de amamentação. O citomegalovírus é comumente excretado no leite materno de mulheres soropositivas, começando na primeira semana pós-parto, com um pico entre 4 e 8 semanas após o nascimento, e diminuindo progressivamente a partir deste período (LANZIERI et al., 2013).

A eliminação do CMV no leite materno pode representar a principal fonte de infecções pós-natais. Em bebês prematuros, especialmente prematuros extremos, o

leite materno é importante porque contém fatores nutricionais e imunológicos protetores (HAYASHI et al., 2010).

Embora a infecção adquirida através da amamentação seja assintomática em recém-nascidos a termo, uma ampla gama de manifestações clínicas tem sido relatada nos pretermos (HAMPRECHT et al., 2008). Esta correlação levou a uma recomendação de prudência na alimentação de leite cru para prematuros extremos (menores de 1000g ao nascer e/ou menores de 30 semanas de idade gestacional). Ao contrário das populações maternas com soroprevalência de baixa a intermediária de CMV, a recorrência da infecção é frequente em situações com alta soropositividade ao CMV, resultando em altos níveis de anticorpos em mulheres soropositivas e transferência eficiente de anticorpos neutralizantes para seus bebês (YAMAMOTO et al., 2013).

A relação de reativação do CMV em qualquer estágio da amamentação durante os primeiros três meses após o nascimento é alta (maior 95%) e equivale quase à soroprevalência materna. As soroprevalências do CMV na Europa Ocidental, Estados Unidos, Canadá e Austrália variam entre 40% e 60%. Na África do Sul, Brasil, Índia, Japão e Turquia o índice está acima de 90%. Os mecanismos que levam à disseminação viral exclusivamente em leite materno humano não são compreendidas (HAMPRECHT; GOELZ, 2017).

A reativação materna do CMV de mães soropositivas durante a lactação com derramamento de DNA viral pode ser detectada já no colostro e normalmente termina após cerca de três meses após o nascimento. No entanto, as células do leite infectadas pelo CMV não são essenciais para a transmissão do vírus.

Para fazer o diagnóstico, como na infecção congênita, é necessário a detecção do vírus, ou seu genoma, pela técnica de PCR em amostras biológicas (SORDELLI et al., 2015).

Em um estudo desenvolvido com 94 mães soropositivas para CMV, a maioria das mulheres (82%) apresentou HCMV no leite materno pelo menos uma vez durante o estudo. O citomegalovírus humano apareceu pela primeira vez no leite materno aos $32,2 \pm 32,7$ dias pós-parto, e a duração média da eliminação do HCMV foi de $1,8 \pm 1,3$ meses. A carga média de pico de HCMV no leite materno foi de $3,01 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^4$ cópias / mL (MOYLAN et al., 2017).

Estudo desenvolvido com recém-nascidos pretermos, em uma amostra de 27 lactentes, 22 receberam leite positivo para CMV. Apenas um lactente (4,3%) apresentou níveis detectáveis de CMV. Embora a amamentação tenha claramente um grande impacto na infecção pelo CMV entre os prematuros, as variações das taxas de infecção e doença são variáveis. (HAYASHI et al., 2010).

Os recém-nascidos pretermos nascidos em ambientes de alta soropositividade ao CMV são suscetíveis à infecção pelo CMV do leite materno cru, assim como aqueles nascidos de populações maternas de menor índice de soroprevalência. No entanto, mais estudos são necessários para determinar se o risco de infecção e doença em prematuros extremos diminui com o avanço da idade pós-natal de forma semelhante à maturação fetal intrauterina (MARTINS-CELINI et al., 2016).

O citomegalovírus pode ser eliminado intermitentemente no leite humano (LAMOUNIER; MOULIN; XAVIER, 2004). Embora o CMV tenha sido encontrado no leite humano de mulheres que tiveram filhos prematuros, as revisões de casos de recém-nascidos pretermos que adquiriram CMV pós-natal não demonstraram sequelas clínicas de longo prazo durante vários anos de acompanhamento após a alta hospitalar da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTI Neonatal). Entretanto, os prematuros de muito baixo peso têm maior risco potencial de desenvolver doença sintomática logo após a aquisição do CMV, inclusive através do leite humano. As decisões sobre a amamentação de bebês pretermos por mães reconhecidamente soropositivas para CMV devem incluir a consideração dos potenciais benefícios do leite humano e o risco de transmissão do CMV. Mães com recém-nascidos com menos de 32 semanas de gestação precisam ser rastreadas para CMV. A pasteurização titular (62,5°C [144,5°F] por 30 minutos) e a pasteurização a curto prazo (72°C [161,6°F] por 5 segundos) do leite humano parecem inativar o CMV, porém a pasteurização a curto prazo pode ser menos prejudicial aos constituintes benéficos do leite humano. O congelamento do leite a -20°C (-4°F) por 24 a 72 horas diminuirá os títulos virais, mas não inativará o CMV de maneira confiável (MARQUES; JOÃO; TOMÉ, 2014).

2.4 Prematuridade e a Importância do leite materno:

De acordo com Organização Mundial da Saúde (2018), o prematuro é definido como bebês nascidos vivos antes de completar 37 semanas de gestação. Existem subcategorias de nascimento prematuro, baseadas na idade gestacional:

- Extremamente prematuro (menos de 28 semanas);
- Muito prematuro (28 a 32 semanas); e
- Pretermo moderado a tardio (32 a 37 semanas).

Em proporções globais, estima-se que, a cada ano, 15 milhões de bebês nascem cedo demais. Isso é mais do que 1 em cada 10 bebês e representa uma taxa de 11,1% dos nascimentos, com um milhão de mortes como resultado direto do nascimento prematuro (TEIXEIRA et al., 2018). Os avanços tecnológicos proporcionaram melhores condições de cuidado e sobrevivência para crianças nascidas prematuramente, mas as causas desses nascimentos ainda são pouco conhecidas. Muitos sobreviventes enfrentam uma vida inteira de incapacidade, incluindo dificuldades de aprendizado e problemas visuais e auditivos (OLIVEIRA et al., 2016).

Globalmente, a prematuridade é a principal causa de morte em crianças menores de 5 anos. E em quase todos os países com dados confiáveis, as taxas de nascimento prematuro estão aumentando (OLIVEIRA et al., 2016).

As desigualdades nas taxas de sobrevivência em todo o mundo são gritantes. Em ambientes de baixa renda, metade dos bebês nascidos com menos de 32 semanas morrem devido à falta de cuidados viáveis e custo-efetivos, tais como: calor, apoio ao aleitamento materno e cuidados básicos para infecções e dificuldades respiratórias. Em países de alta renda, quase todos esses bebês sobrevivem (ROLLINS et al., 2016).

Entende-se que a prematuridade e o baixo peso apresentam-se como condições do recém-nascido que normalmente irão necessitar de cuidados especiais que somente podem ser realizados por meio da hospitalização. A hospitalização de um filho na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) é uma situação que pode gerar danos emocionais para toda a família, principalmente para a mãe, por tratar-se

de um ambiente hostil que inibe o contato espontâneo entre mãe e filho. Nesse contexto, a hospitalização do filho na UTIN exige da mulher uma submissão de uma rotina hospitalar estressante e, durante todo esse processo, os sentimentos de medos, inseguranças e incertezas quanto à sobrevivência do filho. Assim, esses aspectos decorrentes da hospitalização, caracterizam-se como um dos fatores que acarretam interferência no processo de aleitamento materno dessas crianças (PAIVA et al., 2013).

A alimentação de recém-nascidos pretermos, especialmente aqueles com menos de 1.500g ao nascer, tem sido uma fonte de crescente preocupação. São observados vários debates sobre o tipo ideal de alimentação a qual permite um desenvolvimento adequado para esses bebês após o nascimento, com taxas de crescimento e ganho de peso próximas às aquelas observadas durante a vida intrauterina (MARTINS-CELINI et al., 2018).

Prematuros e bebês de baixo peso, amamentados no peito da mãe, apresentam menor tempo de internação hospitalar, melhor prognóstico para o desenvolvimento neurológico, diminuição da perda de peso, diminuição do índice de doenças crônicas e agudas e aumento de sobrevida, em relação àqueles amamentados com leite industrializado (PAIVA et al., 2013).

O aleitamento materno é considerado um suplemento imunológico a todos os recém-nascidos, neste contexto para os prematuros é ainda mais crucial. As principais causas de morbidade, mortalidade e sequelas a longo prazo nessas crianças são sepse, meningite e enterocolite necrosante (NEC), mas há evidências de que os oligossacarídeos e anticorpos do leite materno podem ajudar na proteção contra essas doenças (PALMEIRA; CARNEIRO-SAMPAIO, 2016).

Nos recém-nascidos pretermos, o trato intestinal é particularmente vulnerável. Os componentes bioativos no leite materno funcionam sinergicamente para fornecer vários níveis de proteção da NEC, incluindo imunomoduladores, anti-infeccioso, antioxidante, promotor do crescimento e efeitos colonizadores intestinais (PATEL; KIM, 2018).

Vários estudos clínicos confirmam os efeitos benéficos da amamentação no crescimento, desenvolvimento e defesa anti-infecciosa desde a infância até a idade adulta. A amamentação não só proporciona uma composição nutricional ideal para o

recém-nascido, mas, também, representa uma extraordinária integração imunológica entre a mãe e o bebê (VIEIRA BORBA; SHARIF; SHOENFELD, 2018).

A maioria dos recém-nascidos a termos são assintomáticos quando eles adquirem a infecção por citomegalovírus no leite humano e, geralmente, resolve a infecção espontaneamente, porque eles nascem com anticorpos protetores adquiridos a partir de 28 semanas de gestação. Por outro lado, bebês pretermos com peso menor de 1500g e idade gestacional menor que 32 semanas são mais vulneráveis à infecção; é sintomático em 3,7% e tem manifestações graves em 0,7%. Entre os sintomas característicos estão neutropenia, trombocitopenia, anemia e hepatite (SORDELLI et al., 2015).

Todos os benefícios da amamentação parecem compensar os riscos de doença grave por infecção por CMV adquirida no leite materno no período neonatal, o que não se associou definitivamente ao atraso no desenvolvimento ou à perda auditiva neurossensorial observada na infecção congênita pelo CMV (MIRON et al., 2005).

Entretanto, dados de acompanhamento em longo prazo sobre os efeitos da infecção por CMV pós-natal são limitados, com apenas um pequeno número de crianças estudadas na infância (LANZIERI et al., 2013).

Em prematuros, a nutrição inadequada nos primeiros meses de vida pode persistir ao longo da infância, adolescência e idade adulta, levando à puberdade precoce e à obesidade (HAY, JR., 2008).

3. JUSTIFICATIVA

A recente pesquisa realizada no Brasil (São Paulo) (MARTINS-CELINI et al., 2016) sobre a transmissão do CMV ao recém-nascido, através do leite materno cru, tem levado diversos especialistas neonatais a contraindicar o leite cru na alimentação do prematuro menor que 30 semanas.

Ocorre que, se for considerado que 96% da população brasileira é soropositiva para CMV, bem como que o leite materno teria um papel importante na prevenção de outras infecções, como a Enterocolite Necrotizante, que é potencialmente fatal nesta faixa etária que pode ser prevenida principalmente pela presença da IgA secretora, se faz necessário um estudo mais aguçado sobre a transmissão efetiva desse vírus no leite materno para eventual contraindicação de amamentação.

Além disso, os constituintes do leite materno, especificamente os ácidos graxos de cadeia longa, também são importantes para o neurodesenvolvimento e prevenção da cegueira por retinopatia da prematuridade, porquanto promovem a mielinização do Sistema Nervoso central além de fornecer fatores antioxidantes fundamentais aos recém-nascidos submetidos a oxigenioterapia prolongada.

Portanto, como faltam informações assertivas sobre este tipo infecção e sua gravidade em pretermos, e, se considerarmos que os benefícios do uso do leite materno são maiores que os eventuais riscos, a contraindicação da utilização do leite cru deixa de ser relevante.

O Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF) possui um banco de leite humano que promove o uso do leite materno da própria mãe para o seu recém-nascido e não tem identificado, nos últimos anos, infecção pelo CMV transmitida pelo leite materno nos seus pretermos.

Além dos benefícios nutricionais e imunológicos do leite materno, o uso do leite da própria mãe tem contribuído para a promoção da saúde materno-infantil, melhorando os vínculos e contribuindo para a melhoria do prognóstico a curto e longo prazo do recém-nascido. A mãe é estimulada a permanecer na unidade neonatal e a praticar a posição mãe-canguru o que posteriormente contribui para a alta em amamentação exclusiva.

De acordo com o Ministério da Saúde, no Brasil o número de prematuros corresponde a 12,4% do total de partos. Esse valor equivale ao dobro dos países europeus.

Desse modo, simplesmente contraindicar o uso do leite da própria mãe para estes prematuros, poderá acarretar a perda dos benefícios da amamentação, e, com isso, influenciar todo o cuidado necessário a um bom desenvolvimento do recém-nascido e do próprio ser humano. O estudo pretende, assim, evidenciar a taxa de positividade no leite materno cru e o potencial de transmissão para os neonatos pretermos.

4. OBJETIVO GERAL

Avaliar a taxa de positividade do CMV no leite materno e a taxa de transmissão por esta via para os recém-nascidos menores de 32 semanas.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.1 Avaliar a taxa de positividade para CMV no leite materno;

5.2 Avaliar a taxa de positividade para CMV na urina dos recém-nascidos

5.3 Avaliar a taxa de infecção clínica e laboratorial pelo CMV nos recém-nascidos por meio da análise do PCR na urina coletadas semanalmente.

6 MÉTODOS

6.1 Desenho do estudo

Estudo longitudinal tipo coorte para estudar a taxa de infecção por CMV em recém-nascidos menores de 32 semanas.

6.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo recém-nascidos, com idade gestacional menor ou igual a 32 semanas. Os recém-nascidos precisariam estar internados na UTI Neonatal do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF) e do Hospital Maternidade Maria Amélia Buarque de Hollanda, para que as coletas fossem realizadas dentro da rotina do setor e foram incluídas mães com idade superior ou igual aos 16 anos.

6.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os recém-nascidos que apresentaram IgM positivo para CMV ao nascimento. Recém-nascidos com contraindicação para uso de leite humano cru (portadoras de HIV, presença de doenças metabólicas como galactosemia), recém-nascidos com outras infecções do grupo TORCHS (sífilis e herpes), aqueles que evoluíram para óbito antes de 15 dias de vida. Também foram excluídos os recém-nascidos com malformações ou síndromes genéticas que impossibilitaram o aleitamento materno, além de situações críticas ou casos que levaram à impossibilidade da coleta de algum dos materiais durante o período de internação na UTI Neonatal.

Foram também excluídas as mães que apresentaram alguns quadros graves de saúde ou transtornos psicológicos/psiquiátricos, o que impossibilitou participação das mesmas na pesquisa.

6.4 Casuística

Para estimar a relação da exposição com a transmissão do CMV calculou-se uma amostra de 50 recém-nascidos com medidas repetidas, considerando uma prevalência de 15% de casos expostos positivos, OR de 16, um nível de confiança de 95 e um poder de 80%. O número anual de internações nesta faixa etária é cerca de 90 recém-nascidos nas unidades incluídas no estudo.

Todas as mães de recém-nascidos menores de 32 semanas internados nas unidades neonatais foram convidadas a participar do estudo. Foi obtido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O recrutamento foi realizado até que se completasse o tamanho amostral previsto.

Cronograma de coleta de dados:

Amostras	Nascimento	Semana					
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a
PCR Sangue cordão	X						
Sorologia sangue materno	X						
PCR Leite materno	X	X	X	X	X	X	X
PCR Saliva	X	X	X	X	X	X	X
PCR Urina	X	X	X	X	X	X	X

6.5 Materiais procedimento e técnicas

As mães foram convidadas a participar do estudo na primeira visita que realizaram na UTI neonatal. Os exames coletados do sangue do cordão no local do nascimento foram enviados para exames sorológicos para CMV, após obtenção do TCLE. E para as mães que não realizaram ou não haviam resultados de sorologia para CMV no pré-natal, foram colhidos logo após o consentimento materno.

Dos recém-nascidos foram coletados, semanalmente, a saliva e a urina para realização do PCR. A saliva foi coletada por meio do SWAB e a urina com o saco coletor. Todos os materiais foram de uso na rotina da UTI Neonatal. No momento da

coleta da urina, houve o cuidado de não colar o adesivo na pele, evitando o risco de lesão.

Todas as coletas com os recém-nascidos foram durante a internação na UTI Neonatal, dentro da rotina do setor, não havendo possibilidade de deslocamento extra da mãe ou de seu RN. E a coleta foi interrompida no momento de alta do recém-nascido.

O teste de avidéz para CMV: a sorologia materna para CMV IgG e IgM foi investigada no prontuário através dos exames pré-natais. Mas na ausência desta informação, o exame foi realizado. O teste de avidéz serve para diferenciar uma infecção recente de uma reativação da doença pré-existente ou mesmo identificar pacientes que tem anti-IgM positivo, mesmo sem ter a infecção aguda pelo CMV. Baixa avidéz para anticorpos anti-CMV IgG é indicativo de infecção primária (recente/aguda), enquanto alta avidéz exclui infecção primária.

Teste PCR: amostras de sobrenadante de leite materno foram submetidas à extração de DNA usando kit de coluna comercial (Qiagen, Inc). A estratégia de amplificação utilizada foi a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) para testar no leite da mãe, na saliva e urina do recém-nascido ao nascimento, com intervalos semanais até 45 dias após o nascimento. Cada análise de RT-PCR foi realizada em triplicata usando 25 µL volume final de reação e 5 µL de amostra de teste. O espécime foi considerado positivo se o resultado final foi maior que 1 cópia de CMV por reação que foram detectadas em pelo menos 2 dos 3 ensaios. O limite de detecção do RT-PCR utilizado no laboratório foi descrito para 50-100 cópias / mL (MOYLAN et al., 2017).

O ensaio consistiu em um sistema de amplificação e detecção por PCR que empregou como sonda um primer fluorescente bifuncional para detectar DNA de citomegalovírus em sangue total ou plasma. O teste consistiu em duas etapas básicas: (1) extração de DNA de amostras do paciente e (2) aplicação de uma sonda/primer fluorescente bifuncional e um primer reverso para amplificar um segmento específico para análise (tanto no analito como em um controle interno). O alvo do ensaio foi uma região bem conservada do gene UL83 do genoma do CMV, que permitiu identificar DNA viral na amostra. O processo de extração foi monitorado por um controle interno que também detectou eventuais inibições da reação de PCR.

Os sinais de amplificação obtidos das amostras foram comparados a uma curva de calibragem e quantificados.

Foi aplicado um questionário para a mãe para obtenção do histórico pré-natal, assim como consulta ao prontuário materno. As condições clínicas dos recém-nascidos foram também registradas e as seguintes variáveis colhidas: (a) peso ao nascer; (b) idade gestacional; (c) resultados de hemograma para pesquisa de neutropenia ou plaquetopenia; (d) enzimas hepáticas se houve; (e) episódios de sepse; (f) uso de antibióticos; (g) tempo de vida no início do uso do leite materno; e (h) volume semanal de leite cru ingerido até os 45 dias de vida.

Todas as amostras foram enviadas e analisadas no Repositório de Amostras Biológicas do Instituto Nacional da Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (RABIFF), seguindo as políticas de uso do mesmo. As amostras da instituição coparticipante também foram encaminhadas ao laboratório de Alta complexidade do IFF, sem necessidade de custo adicional. Todos os resultados foram disponibilizados nos prontuários dos recém-nascidos e, se os mesmos apresentaram algum sintoma suspeito, os exames foram realizados imediatamente.

Após a aferição dos exames do PCR nos materiais biológicos, os mesmos foram descartados, não havendo a necessidade de manter os materiais para futuros exames.

Riscos: os riscos relacionados a pesquisa se referem ao volume de leite colhido que pode retirar do bebê um volume a ele necessário. Entretanto, os volumes necessários são pequenos, variando de um a três ml, e com isso este risco é desprezível. As coletas de saliva por *swab* nos recém-nascidos não são invasivas, favorecendo a adesão materna ao estudo. Para a coleta da urina do recém-nascido o risco é de lesão de pele. Como medidas preventivas foram utilizados os cuidados de rotina das unidades neonatais.

6.6 Plano de análise

Os recém-nascidos foram divididos em grupos de acordo com o resultado dos exames de PCR em tempo real e situação clínica (positivo sintomático, positivo

assintomático, negativo). Os dados foram colhidos e registrados em uma planilha do Programa Epi-Info 7.

Foram colhidas variáveis clínicas categóricas (presença de sepse) e contínuas (peso, idade gestacional, tempo de uso do leite materno) e usados testes para as variáveis de distribuição normal (teste T de student) e não normal (Wilcoxon ou Kluskal-wallis) e testes para medidas repetidas com distribuição normal (ANOVA). Para as medidas repetidas não normais foi usado teste de Metodologia de Efeito Relativo de Tratamentos.

A comparação, ao longo das semanas para as variáveis qualitativas, foi realizada relacionando o resultado do exame materno com o resultado do exame laboratorial do recém-nascido, a cada semana, através do teste de Qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Além disso, foi utilizada a curva de Kaplan-Meier para identificar em que momento o recém-nascido foi infectado com o vírus.

6.7 Aspectos éticos

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do IFF (CAAE: 98206118.9.0000.5269), com coparticipação do Comitê do Hospital Maternidade Maria Amélia Buarque de Hollanda.

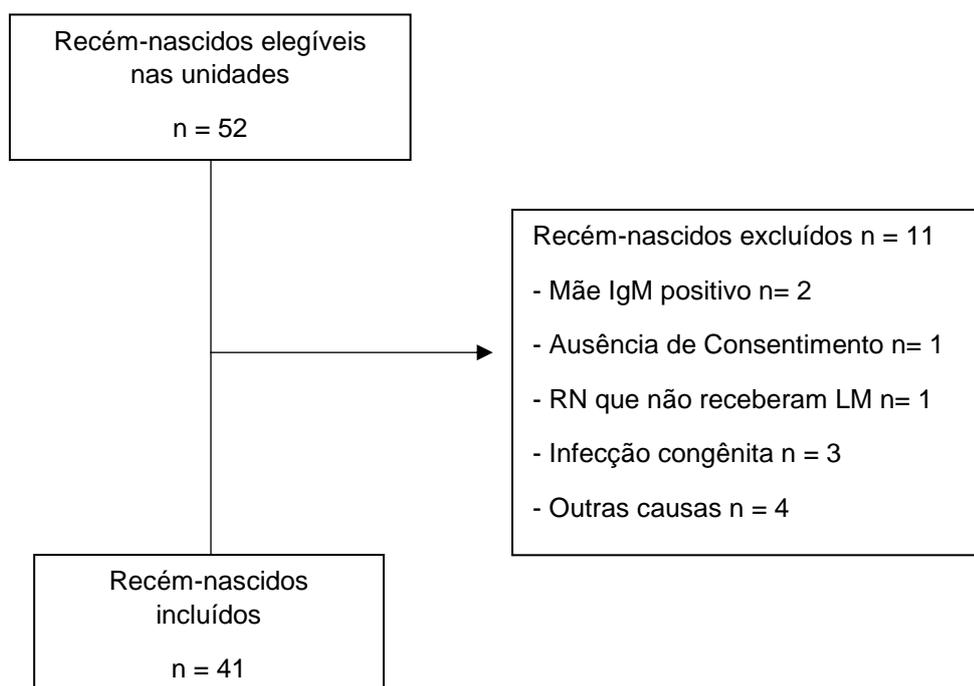
A participação na pesquisa esteve, condicionada à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) obtido, de forma livre e espontânea, em local reservado e adequado para a leitura do mesmo. Neste momento o pesquisador estava presente para esclarecimentos em eventuais dúvidas sobre o estudo.

O estudo está de acordo com os princípios éticos de não maleficência, beneficência, justiça e autonomia, contidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 2011 – Resolução nº466/12).

7 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo, 41 mães e recém-nascidos, nascidos no período de 17 de março de 2019 a 18 de fevereiro de 2020 dos seguintes locais: no Instituto Fernandes Figueira (25) e na Maternidade Maria Amélia (27).

Figura 1: Fluxograma do estudo



Das 41 mães que compuseram o presente estudo, a maioria (78%) se autodeclarou não branca. A média da idade materna foi de aproximadamente 26 anos, variando de 17 a 41 anos. Todas as puérperas realizaram pré-natal, tendo feito em média 5 consultas. A média da idade gestacional no momento do parto foi de 30 semanas. O parto cesáreo foi o mais frequente (61%). As características sócio demográficas das mães incluídas no estudo estão descritas na tabela 1.

Tabela 1- Características demográficas e obstétricas das puérperas incluídas no estudo, 2020.

Variáveis contínuas	Media ± DP	Mediana
Idade materna (anos)	26,7 ± 8,3	25
Paridade	1,9 ± 1,4	1
Número consultas de pré-natal	5,4 ± 2,1	5

Variáveis categóricas	Número (%)
Tipo de parto	
<i>Cesárea</i>	25 (61)
<i>Vaginal</i>	16 (39)
Cor	
<i>Branca</i>	9 (22)
<i>Não branca</i>	32 (78)
Escolaridade	
<i>Superior completo</i>	3 (7,3)
<i>Superior incompleto</i>	3 (7,3)
<i>Médio completo</i>	16 (39)
<i>Médio incompleto</i>	15 (36,6)
<i>Fundamental completo</i>	2 (4,9)
<i>Fundamental incompleto</i>	2 (4,9)
Local de moradia	
<i>Capital</i>	32 (78)
<i>Região metropolitana</i>	9 (22)

Das 41 mães foram colhidas 188 amostras de leite humano e 221 amostras de urina do recém-nascido semanalmente. Os testes sorológicos das mães colhidos durante o trabalho de parto ou logo após o nascimento foram todos IgG positivo e IgM negativo. No decorrer do estudo, ocorreram dois óbitos entre os recém-nascidos incluídos, a saber: um por sepse bacteriana e outro por enterocolite necrosante. Em nenhum deles a urina ou leite materno foi positivo para CMV.

Quanto às características dos recém-nascidos, a média de peso ao nascer foi de 1283g sendo a maioria (53,7%) do sexo feminino. Durante a Internação, 12,2%

(n=5) estavam em aleitamento materno exclusivo e 68,3% (n= 28) estavam em aleitamento materno parcial, ou seja, recebendo leite materno e fórmula infantil **(Tabela 2)**.

Tabela 2- Características clínicas dos recém-nascidos participantes da pesquisa, 2020.

Variáveis contínuas	Media ± DP
Peso ao nascer(g)	1283,17 ± 400,47
Idade gestacional(semanas)	30 ± 2,63
Peso na alta(g)	2263,74 ± 384,70
Tempo de internação(dias)	46,40 ± 23,33
Variáveis categóricas	número (%)
Sexo	
Masculino	19 (46,3)
Feminino	22 (53,7)
PIG	
Sim	11 (26,8)
Não	30 (73,2)
Tipo de alimentação	
LM exclusivo	5 (12,2)
LM e LHOP	4 (9,8)
LM e fórmula	28 (68,3)
Presença de sepse	
Sim	20 (48,8)
Não	17 (41,5)

LHOP – Leite Humano Ordenhado e Pasteurizado

Ao comparar os recém-nascidos positivos e negativos para CMV, não foram encontradas diferenças significativas em relação às características clínicas naqueles que evoluíram com positividade na urina **(Tabela 3)**. O mesmo resultado foi encontrado quando se comparou o perfil de mães que testaram positivo ou negativo no leite materno **(Tabela 4)**.

Tabela 3: Características clínicas entre os recém-nascidos positivos e negativos para CMV, 2020.

	Urina									
	Negativo			Positivo			Total			p valor
	N	Media	DP	N	Media	DP	N	Media	DP	
Idade Gestacional	23	30,435	2,6428	18	29,889	2,6765	41	30,195	2,6384	0,518
Peso ao nascer (g)	23	1335,348	406,6326	18	1216,500	393,6924	41	1283,171	400,4753	0,352
PC ao nascer (cm)	23	26,783	3,3433	18	26,750	2,6693	41	26,768	3,0292	0,973
Comprimento ao nascer (cm)	23	38,043	4,3847	17	37,176	4,0348	40	37,675	4,2086	0,527
Apgar 1	22	7,000	1,8516	18	6,778	1,8647	40	6,900	1,8369	0,709
Apgar 5	22	8,227	1,1098	18	8,389	,7775	40	8,300	,9661	0,605
Tempo de internação	22	42,273	22,1191	15	52,467	24,5003	37	46,405	23,3363	0,196
Peso de alta (g)	20	2210,000	237,7285	15	2335,400	522,5805	35	2263,743	384,7014	0,347

DP - desvio padrão.

Tabela 4- Características clínicas entre os recém-nascidos cujas mães testaram positivo ou negativo no LM, 2020.

Variáveis	Leite materno		p valor
	Negativo	Positivo	
Idade materna (anos)	27,2 ± 9,3	26,1 ± 7,1	0,662
Gestações (n) (mediana)	1,5	1,0	0,402

Não houve diferenças estatisticamente significativas em nenhuma outra variável (escolaridade, local de moradia, cor ou tipo de parto) entre as mães que apresentaram leite com PCR positivo ou negativo. Todas as mães incluídas no estudo foram sorologicamente testadas e apresentaram IgG positivo e IgM negativo.

Entre as 41 crianças admitidas no estudo, 18 testaram positivo para urina em algum momento durante a internação (43,9%). A média do tempo de vida no primeiro exame positivo foi de 13 ± 8,5 dias (mínimo 4 e máximo 42 dias). Em relação à positividade para CMV no leite materno, 19 apresentaram pelo menos uma amostra positiva (46,3%). Houve concordância entre os exames positivos apenas em 11 crianças.

Nenhum dos pretermos admitidos no estudo apresentou sintomas típicos de infecção por CMV, tais como: hepatoesplenomegalia, hepatite ou plaquetopenia. Dos recém-nascido nenhum fez uso de Ganciclovir. Entretanto, os exames referentes à perda auditiva e ao neurodesenvolvimento das crianças ainda não foram realizados e estão programados.

Foram colhidas amostras de salivas de todas as crianças no mesmo momento em que a coleta da urina foi realizada. Entretanto, os exames de PCR no swab ainda não foram realizados.

8 DISCUSSÃO

A imunidade pré-concepcional materna pelo citomegalovírus (CMV) não protege o feto de adquirir infecção congênita por CMV (cCMV). Infecções não primárias devido à recorrência de infecções latentes ou reinfecção com novas cepas de vírus durante a gravidez podem resultar em infecção fetal. Como a prevalência da cCMV aumenta com o crescimento da soro prevalência materna do CMV, a grande maioria dos casos de cCMV em todo o mundo segue infecções maternas não primárias e é mais comum em indivíduos de menor nível socioeconômico. No Brasil, YAMAMOTO et al (1999), relatam alta prevalência de infecção congênita por CMV no nascimento e uma soro prevalência quase universal (97%), sendo similar em mulheres grávidas de 12 a 46 anos. No nosso estudo, das mães elegíveis (n=51), duas apresentaram IgM positivo e foram excluídas do estudo e todas (100%) eram IgG positivas. Entre as incluídas aproximadamente 78% eram não brancas e 19 (46,3%) não completaram o ensino médio. Entretanto, nenhuma variável associada ao nível sócio econômico foi diferente estatisticamente entre o grupo de recém-nascidos positivos e negativos.

Outra possível via de transmissão mãe-recém-nascido, além da infecção adquirida intra-útero, é por meio do leite materno. A transmissão do CMV via leite materno pode levar a doenças agudas graves em prematuros de muito baixo peso. Embora a maioria das mulheres soropositivas para CMV excrete o CMV no leite, a infecção pós-natal sintomática de bebês ocorre com pouca frequência, sugerindo que fatores virológicos ou imunológicos presentes no leite podem estar associados ao risco e gravidade da infecção pós-natal por CMV (YAMAMOTO; FIGUEIREDO; MUSSI-PINHATA, 1999b). No nosso estudo, todas as mães das crianças infectadas eram soropositivas (IgG positivo), tinham idade média de $26,7 \pm 8,3$ anos, sendo 20 primigestas e 21 multíparas. Nenhuma delas apresentou reativação da infecção na gravidez considerando o IgM colhido no momento do parto. Estes dados sugerem que a maioria das infecções primárias por CMV ocorre cedo nesta população, ou seja, na infância ou adolescência, em contraste com as taxas encontradas em países desenvolvidos países onde 50% das mulheres grávidas são soropositivas para CMV. Além disso, embora este estudo esteja restrito a puérperas o perfil de prevalência detectado é consistente com o observado no sangue brasileiro e sugere

que a maioria das mulheres desta população não é mais suscetível à infecção primária por esse vírus durante a idade fértil (SOUZA et al., 2010).

Como uso de hemoderivados oriundos de doadores soronegativos para o CMV em prematuros, o leite materno tornou-se a principal fonte de transmissão pós-natal do CMV. Embora a maioria das mulheres lactantes soropositivas para CMV possuam derramamento viral detectável por reação em cadeia da polimerase (PCR) no leite, a taxa de transmissão pós-natal de CMV varia de 4% a 69%, com variação nas taxas de incidência relatadas atribuível ao desenho do estudo. No nosso estudo, 11 pré-termos cujas mães apresentaram positividade no leite humano tiveram a urina positiva (26,8%) o que sugere também outras formas de transmissão dentro das unidades neonatais (MUSSI-PINHATA; YAMAMOTO, 2020). No entanto, a incidência de infecção pós-natal sintomática por CMV é baixa e restrita aos bebês mais prematuros (YAMAMOTO; FIGUEIREDO; MUSSI-PINHATA, 1999a), (YAMAMOTO; FIGUEIREDO; MUSSI-PINHATA, 1999b), (MUSSI-PINHATA; YAMAMOTO, 2020). A alta positividade do leite materno para CMV tem preocupado profissionais do cuidado neonatal e alguns tem recomendado o não uso de leite materno cru em pré-termos menores que 30 semanas (MARTINS-CELINI et al., 2016). Ainda há muita controvérsia sobre esta real possibilidade de pior neurodesenvolvimento nos infectados via leite materno. JIM et al (2015), avaliaram os efeitos e resultados sobre crescimento, estado de desenvolvimento neurológico e audição em prematuros com muito baixo peso ao nascer com infecção pós-natal por CMV via leite materno na idade corrigida de 12 e 24 meses. A população do referido estudo compreendeu todas as crianças prematuras vivas ($n = 55$) com peso ao nascer ≤ 1.500 de idade gestacional ≤ 35 semanas. Os resultados clínicos foram documentados durante a hospitalização e após a alta. Os resultados a longo prazo incluíram antropometria, testes audiológicos, quociente motor bruto, uma série de testes de desenvolvimento infantil e resultados no desenvolvimento neurológico; todos foram avaliados na idade pós-corrigida em 12 e 24 meses durante as visitas de acompanhamento. Dos 55 lactentes incluídos no estudo, 14 adquiriram CMV pós-natal via leite materno (grupo infectado) e foram comparados com 41 crianças sem infecção por CMV (grupo controle). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação às características basais, resultados clínicos, antropometria ou desenvolvimento psicomotor e mental na escala de

desenvolvimento infantil de Bayley. Nenhum dos bebês teve morte relacionada ao CMV ou perda auditiva neurosensorial permanente. Os autores concluíram que a transmissão do CMV de mãe soropositiva via leite materno para bebês prematuros não parece ter efeitos adversos importantes nos resultados clínicos, crescimento, status de desenvolvimento neurológico e função auditiva aos 12 e 24 meses de idade corrigida. No presente estudo, 19 (46,3%) mães apresentaram PCR positivo no leite materno. Todavia, o acompanhamento dos recém-nascidos foi realizado apenas no período neonatal e um seguimento mais longo é necessário para avaliar desfechos tais como a perda auditiva e o neurodesenvolvimento, e assim, estabelecer a real transmissibilidade e infectividade do vírus através do leite materno.

O CMV é uma das mais comuns infecções congênitas e pode resultar em um quadro séptico e perda auditiva neurosensorial e outras sequelas neurológicas. A transmissão pós-natal do CMV é em geral assintomática em bebês a termo, no entanto, em bebês prematuros de muito baixo peso, as infecções pós-natais podem resultar em uma doença semelhante à sepse caracterizada por trombocitopenia, hepatite e pneumonite (MIURA et al., 2006). Neste estudo, apesar de ter sido observado uma taxa de positividade de 43% na urina, não foi observado um quadro clínico compatível com CMV em nenhuma das crianças com PCR positivo na urina. Os dois óbitos registrados aconteceram após um quadro de sepse bacteriana e outro por enterocolite necrosante em pretermos com urina negativa e leite materno negativo.

Neste estudo foram colhidas 188 amostras de leite humano de 41 puérperas e dentre estas 40 foram positivas em 19 puérperas. A transmissão do citomegalovírus (CMV) via leite materno pode levar a doenças agudas graves em prematuros de muito baixo peso (MUSSI-PINHATA; YAMAMOTO, 2020). Embora a maioria das mulheres soropositivas para CMV transmita CMV no leite, a infecção pós-natal sintomática em pretermos ocorre com pouca frequência, sugerindo que fatores virológicos ou imunológicos no leite podem estar associados ao risco e gravidade da infecção pós-natal por CMV. O papel das respostas imunes maternas específicas do CMV na transmissão CMV pós-natal não é clara e, além disto, o próprio leite materno possui fatores imunológicos que podem de alguma forma mediar a magnitude da infecção na criança (EHLINGER et al., 2011). Neste estudo, das 19

puérperas que apresentaram CMV positivo no leite apenas 11 recém-nascidos apresentaram CMV positivo na urina, o que confirma os achados na literatura de que o perfil de transmissão pelo leite humano é mediado por outros fatores além da presença do vírus no leite materno.

Os fatores de risco identificados para a transmissão pós-natal de CMV incluem a magnitude da carga de CMV no leite, derramamento precoce de CMV no leite, duração da amamentação e menor idade gestacional do bebê e peso ao nascer. Embora as respostas imunes celulares específicas do vírus sejam necessárias para o controle da replicação sistêmica do CMV e as respostas humorais específicas do CMV desempenhem um papel na proteção contra a transmissão congênita do CMV, o papel das respostas imunes maternas específicas do CMV na transmissão CMV pós-natal não é clara (EHLINGER et al., 2011). EHLINGER et al (2011), compararam as respostas imunes específicas para o CMV no leite e no sangue de mães soropositivas para o CMV de prematuros. A magnitude das respostas celulares específicas do CMV foi significativamente maior no sangue que no leite. Da mesma forma, as respostas de IgG e IgA de ligação ao CMV foram de magnitude significativamente maior no plasma do que no leite. No entanto, quando as respostas de IgG de ligação ao CMV foram normalizadas pelo conteúdo total de IgG, as respostas do leite foram de magnitude significativamente maior do que as do plasma. Da mesma forma, as respostas IgA normalizadas de ligação ao CMV tendem a ser mais robustas no leite que no plasma (EHLINGER et al., 2011).

Esta fase é ainda a primeira fase deste estudo. Ainda não foram analisadas as salivas colhidas dos recém-nascidos e o follow-up para estudos de neurodesenvolvimento e perda auditiva estão programados no estudo principal.

Em geral, devido à facilidade de coleta, a saliva foi recentemente recomendada como a amostra preferida, não apenas para triagem, mas também para o diagnóstico de infecção por citomegalovírus congênito. Um grande estudo prospectivo da triagem por CMV em recém-nascidos mostra que a PCR em tempo real em amostras de saliva apresenta excelente sensibilidade (maior 97%) e especificidade (99,9%) em comparação com a cultura rápida de saliva padrão. Isso indica que os ensaios de PCR da saliva, que podem ser facilmente adaptados para a

triagem em larga escala de recém-nascidos, identificará a maioria dos bebês que têm infecção congênita por CMV (BOPPANA et al., 2011).

A maioria das infecções por citomegalovírus congênito (cCMV) é assintomática ao nascimento e, portanto, não é diagnosticada. Aproximadamente 10 a 15% desses bebês desenvolvem perda auditiva de início tardio e outros distúrbios do desenvolvimento. A implementação de uma abordagem de triagem universal no nascimento pode permitir o início precoce de intervenções sintomáticas devido a um acompanhamento mais próximo dos bebês em risco e oferece a oportunidade de considerar o tratamento da doença de início tardio. Nos últimos anos tem sido proposto um teste de triagem universal para CMV em recém-nascidos para evitar perdas auditivas e atrasos de desenvolvimento (MUSSI-PINHATA; YAMAMOTO, 2020).

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados obtidos no presente estudo, a positividade na urina e no leite materno não apresentou diferenças significativas nos recém-nascidos, e os mesmos não apresentaram alterações clínicas devido à transmissão do CMV. Mas, o estudo até o momento teve suas limitações. Uma delas se refere as etapas programadas e ainda não cumpridas e ao tamanho amostral. As análises da saliva ainda precisam ser realizadas, assim como o *follow-up* das crianças até o final do primeiro ano de vida verificado. Também está previsto o aumento do tamanho amostral para, pelo menos, 100 recém-nascidos.

Próximos passos: Avaliação da saliva dos recém-nascidos e follow up das crianças até o final do primeiro ano de vida. Também esta previsto o aumento do tamanho amostral.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEO, L. G.; SOUZA, S. B. DE; SZARFARC, S. C. Práticas alimentares no primeiro ano de vida. **Journal of Human Growth and Development**, v. 24, n. 2, p. 195–200, 2014.

AZEVEDO, M. DE; CUNHA, M. L. C. DA. Fatores associados ao aleitamento materno exclusivo em prematuros no primeiro mês após a alta hospitalar. **Rev. HCPA & Fac. Med. Univ. Fed. Rio Gd. do Sul**, v. 33, n. 1, p. 40–49, mar. 2013.

BALCELLS, C. et al. Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 44, n. 5, 1 jan. 2016.

BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human Milk Composition. **Pediatric Clinics of North America**, v. 60, n. 1, p. 49–74, fev. 2013.

BANDEIRA DE SÁ, N. N. et al. Fatores ligados aos serviços de saúde determinam o aleitamento materno na primeira hora de vida no Distrito Federal, Brasil, 2011. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 3, p. 509–524, set. 2016.

BARDANZELLU, F.; FANOS, V.; REALI, A. “Omics” in Human Colostrum and Mature Milk: Looking to Old Data with New Eyes. **Nutrients**, v. 9, n. 8, 7 ago. 2017.

BARDANZELLU, F.; FANOS, V.; REALI, A. Human Breast Milk-acquired Cytomegalovirus Infection: Certainties, Doubts and Perspectives. **Current Pediatric Reviews**, v. 15, n. 1, p. 30–41, 2019.

BICK, D. Born too soon: The global issue of preterm birth. **Midwifery**, v. 28, n. 4, p. 401–402, 1 ago. 2012.

BOCCOLINI, C. S. et al. Breastfeeding indicators trends in Brazil for three decades. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, p. 108, 27 dez. 2017.

BOPPANA, S. B. et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 22, p. 2111–2118, 2 jun. 2011.

BRAZIL; DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS ESTRATÉGICAS. **II pesquisa de prevalência de aleitamento materno nas capitais brasileiras e Distrito Federal**. Brasília, D.F.: Editora MS, 2009.

EHLINGER, E. P. et al. Maternal cytomegalovirus-specific immune responses and symptomatic postnatal cytomegalovirus transmission in very low-birth-weight preterm infants. **J Infect Dis**, v. 204, n. 11, p. 1672–82, 10PY - 2011 2011.

HAMPRECHT, K. et al. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. **J Clin Virol**, v. 41, n. 3, p. 198–205, 02PY 2008.

HAMPRECHT, K.; GOELZ, R. Postnatal Cytomegalovirus Infection Through Human Milk in Preterm Infants. **Clinics in Perinatology**, v. 44, n. 1, p. 121–130, mar. 2017.

HAY, JR., W. W. Strategies for Feeding the Preterm Infant. **Neonatology**, v. 94, n. 4, p. 245–254, 2008.

- HAYASHI, S. et al. Transmission of cytomegalovirus via breast milk in extremely premature infants. **Journal Of Perinatology**, v. 31, p. 440, 16 dez. 2010.
- JIM, W.-T. et al. Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection via Breast Milk: A Two-Year Prospective Follow-Up Study. **Medicine**, v. 94, n. 43, p. e1835, out. 2015.
- LAMOUNIER, J. A.; MOULIN, Z. S.; XAVIER, C. C. Recomendações quanto à amamentação na vigência de infecção materna. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, p. s181–s188, nov. 2004.
- LANZIERI, T. M. et al. Breast Milk-Acquired Cytomegalovirus Infection and Disease in VLBW and Premature Infants. **PEDIATRICS**, v. 131, n. 6, p. e1937–e1945, 1 jun. 2013.
- LEAL, M. DO C. et al. Prevalence and risk factors related to preterm birth in Brazil. **Reproductive Health**, v. 13, n. Suppl 3, 17 out. 2016.
- LOBATO-SILVA, D. DE F. Citomegalovírus: epidemiologia baseada em dados de soroprevalência. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. esp, p. 213–219, dez. 2016.
- MARQUES, M.; JOÃO, V.; TOMÉ, T. Transmissão do Citomegalovírus no leite materno nos Recém-Nascidos Pré Termos ou Muito Baixo Peso. **Revista Clínica do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca**, v. 1, n. 2, p. 15-18–18, 20 fev. 2014.
- MARTINS-CELINI, F. P. et al. Incidence, Risk Factors, and Morbidity of Acquired Postnatal Cytomegalovirus Infection Among Preterm Infants Fed Maternal Milk in a Highly Seropositive Population. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 7, p. 929–936, 1 out. 2016.
- MARTINS-CELINI, F. P. et al. Association between type of feeding at discharge from the hospital and nutritional status of very low birth weight preterm infants. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 3, 1 mar. 2018.
- MENDRONE JUNIOR, A. Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 1, p. 7–8, fev. 2010.
- MIRANDA, M. M. S. Rastreamento das infecções perinatais na gravidez: realizar ou não? **Femina**, v. 40, n. 1, p. 10, fev. 2012.
- MIRON, D. et al. Incidence and Clinical Manifestations of Breast Milk-Acquired Cytomegalovirus Infection in Low Birth Weight Infants. **Journal of Perinatology**, v. 25, n. 5, p. 299–303, maio 2005.
- MIURA, C. S. et al. Prevalência de infecção congênita por citomegalovírus em recém-nascidos de uma unidade de tratamento intensivo de um hospital público. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 1, p. 46–50, fev. 2006.
- MOYLAN, D. C. et al. Breast Milk Human Cytomegalovirus (CMV) Viral Load and the Establishment of Breast Milk CMV-pp65-Specific CD8 T Cells in Human CMV Infected Mothers. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 216, n. 9, p. 1176–1179, 27 nov. 2017.
- MUSSI-PINHATA, M. M.; YAMAMOTO, A. Y. Natural History of Congenital Cytomegalovirus Infection in Highly Seropositive Populations. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 221, n. Supplement_1, p. S15–S22, 5 mar. 2020.

- NADDEO, F.; PASSOS-CASTILHO, A. M.; GRANATO, C. Cytomegalovirus infection in pregnancy. **J. bras. patol. med. lab**, v. 51, n. 5, p. 310–314, out. 2015.
- OLIVEIRA, L. L. DE et al. Maternal and neonatal factors related to prematurity. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 3, p. 382–389, jun. 2016.
- PAIVA, C. V. A. et al. Breastfeeding a hospitalized newborn: Difficulties of mothers with children in neonatal intensive and intermediate care units. **Reme: Revista Mineira de Enfermagem**, v. 17, n. 4, 2013.
- PALMEIRA, P.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. Immunology of breast milk. **Rev Assoc Med Bras**, v. 62, n. 6, p. 584–593, set. 2016.
- PANESSO-GÓMEZ, S. et al. Detection of Cytomegalovirus in Intestinal Tissue of Infants with Necrotizing Enterocolitis or Spontaneous Intestinal Perforation. **The Journal of Pediatrics**, v. 214, p. 34–40, 1 nov. 2019.
- PASS, R. F.; ANDERSON, B. Mother-to-Child Transmission of Cytomegalovirus and Prevention of Congenital Infection. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 3 Suppl 1, p. S2-6, set. 2014.
- PATEL, A. L.; KIM, J. H. Human milk and necrotizing enterocolitis. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 27, n. 1, p. 34–38, 1 fev. 2018.
- PILAR, R.-G. M. et al. Evaluation of cytomegalovirus infection in low-birth weight children by breast milk using a real-time polymerase chain reaction assay. **Journal of Medical Virology**, v. 87, n. 5, p. 845–850, 2015.
- ROLLINS, N. C. et al. Amamentação² Por que investir e o que será necessário para melhorar as práticas de amamentação? p. 20, 2016.
- SCHLEISS, M. R. Congenital cytomegalovirus infection: molecular mechanisms mediating viral pathogenesis. **Infectious Disorders Drug Targets**, v. 11, n. 5, p. 449–465, out. 2011.
- SORDELLI, N. et al. Infección sintomática por citomegalovirus a través de la lactancia materna en un niño de 45 días. **Arch Argent Pediatr**, v. 113, n. 3, p. e145–e148, jun. 2015.
- SOUZA, M. A. et al. Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies in blood donors in southern, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 359–361, ago. 2010.
- TEIXEIRA, G. A. et al. PERFIL DE MÃES E O DESFECHO DO NASCIMENTO PREMATURO OU A TERMO. **Cogitare Enfermagem**, v. 23, n. 1, 15 jan. 2018.
- TOSCANO, M. et al. Role of the Human Breast Milk-Associated Microbiota on the Newborns' Immune System: A Mini Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 25 out. 2017.
- VAN BOVEN, M. et al. Infectious reactivation of cytomegalovirus explaining age- and sex-specific patterns of seroprevalence. **PLOS Computational Biology**, v. 13, n. 9, p. e1005719, 26 set. 2017.
- VICTORA, C. G. et al. Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. **The Lancet Global Health**, v. 3, n. 4, p. e199–e205, abr. 2015.

VIEIRA BORBA, V.; SHARIF, K.; SHOENFELD, Y. Breastfeeding and autoimmunity: Programming health from the beginning. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 79, n. 1, p. e12778, jan. 2018.

YAMAMOTO, A. Y. et al. Congenital Cytomegalovirus Infection as a Cause of Sensorineural Hearing Loss in a Highly Immune Population: **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 30, n. 12, p. 1043–1046, dez. 2011.

YAMAMOTO, A. Y. et al. Early high CMV seroprevalence in pregnant women from a population with a high rate of congenital infection. **Epidemiology and Infection**, v. 141, n. 10, p. 2187–2191, out. 2013.

YAMAMOTO, A. Y.; FIGUEIREDO, L. T.; MUSSI-PINHATA, M. M. [Prevalence and clinical aspects of congenital cytomegalovirus infection]. **Jornal De Pediatria**, v. 75, n. 1, p. 23–28, fev. 1999a.

YAMAMOTO, A. Y.; FIGUEIREDO, L. T.; MUSSI-PINHATA, M. M. [Perinatal cytomegalovirus infection: commonly occurring but rarely diagnosed]. **Jornal De Pediatria**, v. 75, n. 2, p. 126–130, abr. 1999b.

APÊNDICE 1 – TCLE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Infecção por CMV através da transmissão pelo leite materno em recém-nascidos pretermos menores de 32 semanas: estudo de coorte.

Responsáveis pelo estudo:

Dra. Maria Elizabeth Moreira Lopes

Paloma Glauca Correa Brandão.

Contato: (21) 2554-1911

Instituição responsável pela pesquisa: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz).

Endereço: Avenida Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro - RJ, CEP: 22250-020.

Nome do recém nascido: _____.

Número do prontuário recém nascido: _____.

Nome da mãe: _____.

Estamos realizando um estudo de pesquisa para entender a infecção por Citomegalovírus (CMV) através da transmissão do leite materno para os recém-nascidos prematuros. Citomegalovírus é um tipo de vírus muito comum nos brasileiros e pode ser transmitido da mãe para o bebê pela placenta e pelo leite materno. Estamos pedindo a sua permissão para que você e seu bebê participem deste estudo de investigação porque seu bebê nasceu prematuro e contribuirá para estudarmos a taxa de transmissão do CMV pelo leite materno.

Antes de decidir se você deseja que seu bebê participe deste estudo, queremos dar mais informações sobre a pesquisa.

Rubrica Responsável

Rubrica Pesquisador

Página 1 de 6

Este documento é chamado de termo de consentimento livre e esclarecido, pois seu consentimento só é válido se for dado após ter sido plenamente esclarecido sobre todos os aspectos relevantes do estudo bem como riscos e benefícios que ele pode proporcionar. Ele fornece informações sobre este estudo. Os responsáveis pelo estudo conversarão com você sobre estas informações. Você poderá fazer perguntas a qualquer momento. Se você entendeu o que foi explicado e concorda que seu bebê participe deste estudo, pediremos que você assinasse duas vias deste termo de consentimento livre e esclarecido. Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento para guardar com você e nós guardaremos a outra via. Antes de decidir sobre a participação de seu bebê neste estudo, você precisa entender:

- A sua participação e do seu bebê são completamente voluntárias;
- Você poderá decidir que não quer que o seu bebê participe ou poderá retirá-lo/la do estudo a qualquer momento sem perder acesso a cuidados médicos de rotina e outros benefícios.

Por que este estudo está sendo realizado?

No Brasil, cerca de 96% das mulheres são positivas para CMV. Este estudo nos ajudará a entender se existe uma alta taxa de transmissão do citomegalovírus pelo leite materno em recém-nascidos prematuros. Sabemos que para esta população de prematuros o leite materno tem um papel importante no desenvolvimento e na prevenção de outras infecções.

O objetivo deste estudo é avaliar se na nossa população existe risco de transmissão através do uso do leite da própria mãe cru e se isto supera os benefícios que associamos a promoção do uso deste leite.

Todas as mães de recém-nascidos com idade gestacional menores de 32 semanas internados nas unidades neonatais do IFF serão convidadas a participar deste estudo.

Após este estudo, esperamos saber muito mais sobre a taxa de transmissão do CMV através do leite materno e a relevância para os recém nascidos prematuros.

O que eu devo fazer como participante deste estudo?

Após sua autorização e obtenção deste termo, será aplicado um questionário para obtenção do histórico pré-natal e também serão consultadas informações no seu prontuário. Além disso, será coletado ao nascimento, uma vez por semana até 45 dias de vida do bebê, uma pequena quantidade do seu leite materno para realizar os exames com a finalidade de identificar a presença do CMV.

Também será coletado semanalmente urina e saliva do bebe para que possamos verificar se o vírus está presente no bebe.

O que meu bebê deve fazer como participante deste estudo?

Se você concordar que o seu bebê participe deste estudo, serão coletadas informações clínicas do recém-nascido como: peso ao nascer, idade gestacional, resultados de exames de sangue realizados, transfusões de sangue, ocorrência de complicações durante à internação, uso de antibióticos, tempo de vida no início do uso do leite materno, volume semanal de leite cru ingerido até os 45 dias de vida. Além do tempo de internação da UTI Neonatal e dados da alta hospitalar.

Para identificar a presença ou não do CMV dos pacientes, o estudo utilizará o sangue do cordão umbilical, o qual já é coletado rotineiramente no centro cirúrgico para sorologias maternas e do recém-nascido, usaremos os dados do resultado deste exame. Também coletaremos uma pequena quantidade de saliva do seu bebê, colocando um swab/cotonete com ponta de algodão na boca dele e uma pequena quantidade de urina. Esta coleta será realizada novamente uma vez por semana até 45 dias de vida do bebê.

Todos os resultados dos exames realizados durante o estudo serão fornecidos para os responsáveis do bebê e também para a equipe medica que cuida dele. Quaisquer resultados anormais (obtidos como parte do atendimento clínico do bebê ou como parte deste estudo) serão explicados e orientaremos à você sobre o que pode ser feito para tratar ou providenciar cuidados para os problemas, sempre que possível.

Quais são os riscos e benefícios do estudo?

Possíveis riscos na coleta do leite materno:

Os riscos relacionados ao estudo se referem ao volume de leite colhido que pode retirar do bebe um volume a ele necessário. Entretanto, os volumes necessários são pequenos e este risco é pequeno.

Riscos ao coletar o exame Swab:

A saliva será coletada da boca do seu bebê por pessoal treinado e qualificado (enfermeiras e/ou técnicos de laboratório). Um swab flexível (um cotonete macio de algodão em uma vara curta) será gentilmente inserido sob a língua do seu bebê por alguns segundos até ficar molhado. Isso poderá trazer um pouco de desconforto, mas não resulta em nenhum risco para o seu bebê e não causa dor. A urina será coletada com um saco coletor.

Para evitar tais riscos, as coletas serão realizadas por profissionais da saúde neonatal previamente capacitados.

Possíveis benefícios deste estudo:

O benefício para o bebe será a eventual identificação precoce de infecção pelo CMV que será devidamente comunicado a equipe medica que cuida do bebê. Orientações sobre amamentação também serão fornecidos a mãe. Após a conclusão do estudo, os resultados serão divulgados a todos os que puderem se beneficiar desse conhecimento.

Direito de desistência:

A sua participação nesta pesquisa é voluntária e você poderá abandonar ou se retirar do estudo a qualquer momento, sem que isto cause qualquer prejuízo no tratamento ou acompanhamento nesta instituição. O investigador deste estudo também poderá retirá-lo do estudo a qualquer momento, se ele julgar que seja necessário para o seu bem estar.

Confidencialidade: Os investigadores e o pessoal do estudo estão empenhados em assegurar a confidencialidade e a privacidade dos dados pessoais relativos a você e ao seu bebê durante a pesquisa. Não serão publicados dados ou informações que possibilitem as suas

identificações. Os seus dados somente serão fornecidos em caso de solicitações legais, auditores ou instituições reguladoras.

Via: Você receberá uma via idêntica deste documento assinada pelo pesquisador do estudo.

Custos: Sua participação no estudo não implicará em custos adicionais e você não terá qualquer despesa com a realização dos procedimentos previstos neste estudo. Também não haverá nenhuma forma de pagamento para sua participação.

Indenização: É garantido o direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

O CEP: O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é formado por um grupo de pessoas encarregadas de assegurar de que o estudo de pesquisa obedeça aos critérios de ética durante o desenvolvimento do estudo e na aprovação de qualquer alteração ao estudo.

Este estudo foi aprovado pelo CEP do IFF, o qual se encontra a disposição para eventuais esclarecimentos éticos e outras providências que se façam necessárias (e-mail: cepiff@iff.fiocruz.br; Telefones: 2554-1730/fax: 2552-8491).

O mesmo também foi aprovado pelo CEP do SMS do Rio de Janeiro, o qual se encontra a disposição para quaisquer esclarecimentos éticos e outras providências (e-mail: cepsms@rio.rj.gov.br; Telefones: 2976-2023 / 2215-1485).

Autorizações e assinaturas:

Aprovação do sujeito de pesquisa

Eu, _____ autorizo
voluntariamente a minha participação e a do meu filho/a nesta pesquisa.

Declaro que li e entendi todo o conteúdo deste documento.

Assinatura _____

Data _____

Rubrica Responsável

Rubrica Pesquisador

Página 5 de 6

Telefone _____

Responsável legal para menor de idade:

Aprovação do sujeito de pesquisa

Eu, _____ autorizo

voluntariamente a participação da minha filha menor de idade nesta pesquisa.

Declaro que li e entendi todo o conteúdo deste documento.

Assinatura _____

Data _____

Se a mãe ou responsável for analfabeto:

Testemunhei uma leitura precisa do formulário de consentimento para a participante potencial e ela teve a oportunidade de fazer perguntas. Confirmo que o indivíduo tenha dado consentimento livremente.

Nome da testemunha _____

Assinatura da testemunha _____ Data: _____

Impressão digital dos pais/tutores



Li ou testemunhei uma leitura precisa de um formulário de consentimento para a participante potencial e ela teve a oportunidade de fazer perguntas. Confirmo que o indivíduo tenha dado consentimento livremente.

Responsável que obteve o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

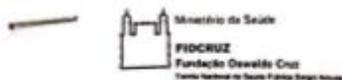
Nome _____

Assinatura _____

Data _____

Confirmo que uma via foi entregue ao participante do estudo _____ (rubrica do investigador/responsável pelo TCLE).

APÊNDICE 2 – Questionário



NÚMERO PACIENTE

I. IDENTIFICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO

Data da entrevista: ____/____/____.

Entrevistador: _____.

II. IDENTIFICAÇÃO

1. Quantos anos você tem?	<input type="text"/> anos
2. Qual a data do seu nascimento?	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>

III. DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

3. Qual o seu endereço completo?		<input type="text"/>
4. Fica em que bairro?		<input type="text"/>
5. Você tem telefone(s) para contato? 0. Não 1. Sim qual(is)?		<input type="text"/>
6. Você sabe ler e escrever?		0. Não 1. Sim 2. Mais ou menos <input type="text"/>
7. Qual foi a última série que você completou na escola? 1. Analfabeto 2. Fundamental incompleto (1º grau) 3. Fundamental completo (1º grau) 4. Médio incompleto (2º grau) 5. Médio incompleto (2º grau) 6. Superior incompleto (3º grau) 7. Superior completo (3º grau)		<input type="text"/>
8. Qual a sua raça ou cor? 1. Branca 2. Parda (morena/mulata) 3. Preta 4. Amarela 5. Indígena		<input type="text"/>
9. Raça ou cor observada pelo entrevistador: 1. Branca 2. Parda (morena/mulata) 3. Preta 4. Amarela 5. Indígena		<input type="text"/>

IV. IDADE GESTACIONAL E PRÉ-NATAL

10. Qual foi a data da sua última menstruação?	<input type="text"/>
11. Você fez alguma ultra-sonografia após saber que estava grávida?	0. Não 1. Sim <input type="text"/>
12. Você realizou pré-natal?	0. Não 1. Sim <input type="text"/>
13. Quantas consultas de pré-natal você realizou durante a gestação?	<input type="text"/>
14. Gesta	<input type="text"/>
15. Para	<input type="text"/>

VI. DADOS A SEREM OBSERVADOS NO PRONTUÁRIO DA PUÉRPERA E NO CARTÃO DE PRÉ-NATAL

16. Data de exame		□□□□□□
17. CMV nesta gravidez?	0. Não 1. Sim	□
18. IgM	0. Negativo 1. Positivo	□
19. IgG	0. Negativo 1. Positivo	□

VII. INFORMAÇÕES DO RECÉM-NASCIDO

20. Número do questionário		□□□□
21. Data de nascimento do recém-nascido		□□□□□□
22. Qual o sexo do bebê?	1. Feminino 2. Masculino	□
23. Qual foi o tipo de parto?	1. Parto normal 2. Cesariana 3. Fórceps	□
24. Qual a idade gestacional no nascimento (USG)		□□□□
25. Qual a idade gestacional no nascimento (DUM)		□□□□
26. Qual a idade gestacional no nascimento (Ballard)		□□□□
27. Qual o peso ao nascer do bebê?		□□□□g
28. Qual o perímetro cefálico ao nascer?		□□□□cm
29. Qual o comprimento ao nascer?		□□□□cm
30. Índice Apgar 1º min		□□
31. Índice Apgar 5º min		□□
32. Classificação Alex	1. PIG 2. AIG 3. GIG	□
33. Tipo de alimentação	0. Leite materno exclusivo 1. Leite materno+complemento (LHOP) 2. Leite materno+fórmula 3. Fórmula	□
34. Tempo de internação		□□□□ dias
35. Peso de alta		□□□□g
36. Intercorrências: Sepses	1. Sim 2. Não	□
37. Intercorrências: DSP	1. Sim 2. Não	□
38. Intercorrências: HIV	1. Sim 2. Não	□

VIII. EXAMES NASCIMENTO

39. Sorologia Mãe		□□
40. Sorologia RN		□□
41. PCR colostro	1. Positivo 2. Negativo	□