



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
Instituto de Ciências Biológicas – ICB
Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina



Prevalência molecular de Citomegalovírus em biópsias placentárias em um hospital universitário no sul do Brasil

Jenifer Matos de Ávila

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito da Disciplina de Trabalho de Graduação II - 15125 - do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Ana Maria Barral de Martinez

Coorientadora: Emiliana Claro Ávila

**Outubro
2016**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me dar forças de seguir em frente, me proporcionar novas oportunidades, permitir estar perto de minha mãe e família e pelas grandes amizades que colocou em meu caminho.

À minha amada mãe Goreti e ao meu padastro Ariomar, por me oferecer todo apoio e incentivo que eu precisava para realizar a graduação. Sou grata a vocês por terem me recebido de braços abertos quando eu mais precisei. Sou eternamente grata a minha mãe, pelo amor, carinho e tudo o que fez por mim.

A minha vó Alda, que por muitos anos cuidou de mim como uma mãe e de alguma maneira ajudou na minha educação.

À minha tia Isabel, por me aconselhar, incentivar e me fazer sorrir em momentos difíceis.

Ao André, meu terapeuta, por me ouvir, tranquilizar e despertar o melhor de mim. Serei sempre grata por me fazer ver as situações de forma leve e positiva.

À minha amiga Paulinha, por me alegrar e me transmitir boas energias. Estamos juntas desde o início da graduação e contigo vive melhores momentos de minha vida e tu também me proporcionou as amizades que tenho hoje. Tenho sorte de ter você como amiga!

Às minhas amigas Isis e Dieni, pela amizade durante toda a graduação e que com certeza será para a vida. Com vocês vive os melhores anos da minha vida, obrigada por fazerem parte disso.

À minha amiga Gabriela, por todos esses anos de amizade e que mesmo longe esta sempre comigo.

À Emiliana, minha coorientadora, que me ajudou e esteve presente em todo o processo deste trabalho. Grata por me ensinar, orientar no laboratório e pelos trabalhos que tive oportunidade de apresentar em congressos. Obrigada também pelos momentos de alegria e amizade.

À Nani, minha querida orientadora, pela oportunidade, apoio e confiança. Pelos ensinamentos com muito carinho e humildade. Obrigada por fazer parte de minha jornada e acrescentar a minha formação..

À Vanusa, minha professora, pela oportunidade de estágio, monitoria e projetos o qual participei. Obrigada por acrescentar a minha formação.

À banca, Carla, Fabiana, Michele, por aceitarem gentilmente o convite.

À minha colega Rosana, por participar deste trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Biologia Molecular pelos ensinamentos.
À FURG pelo apoio financeiro, com bolsa de iniciação científica e monitoria.

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	6
Lista de tabelas	7
Lista de abreviaturas	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUÇÃO GERAL	11
1 Citomegalovírus	12
1.1 Histórico	12
1.2 Morfologia e Síntese	12
1.3 Patogenia	13
1.4 Epidemiologia	15
1.5 Transmissão Vertical	15
1.6 Manifestações clínicas da Infecção por CMV em neonatos	19
1.7 Diagnóstico	20
1.8 Prevenção	21
II. PLACENTA	21
2.1 Estrutura e desenvolvimento da placenta humana	21
2.2 Membrana Placentária	22
2.3 Anatomia dos anexos fetais	22
2.4 Circulação Placentária	23
2.5 Transporte placentário	24
III. METODOLOGIA ESTENDIDA	25
3.1 Amostragem	25
3.2 Cálculo de tamanho da amostra	25
3.3 Procedimentos experimentais	25
3.4 Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	26
3.5 Análise Estatística	27

Manuscrito	28
RESUMO	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
Amostragem e Aspectos Éticos	30
Extração do DNA a partir das biópsias de placenta	31
Amplificação do DNA do CMV por PCR	31
Análise Estatística	31
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS	46
Questionário	46
Termo de Consentimento	49

Lista de Figuras

Figura 1. CMV, componentes do vírus	13
Figura 2. Composição celular útero-placentária no início da gestação	17
Figura 3. Visão geral da placenta, membranas fetais e feto	24
Figura 4. - Estrutura da placenta humana	25

Lista de Tabelas

Tabela 1: Perfil Sociodemográfico das parturientes estratificados de acordo com a prevalência do DNA do CMV pelo método de PCR na placenta	33
Tabela 2: Dados Ginecológicos e obstétricos das parturientes atendidas no HU-FURG estratificados de acordo com a prevalência do DNA do cmv nas placentas	34

LISTA DE ABREVIATURAS

CMV – Citomegalovírus

HCMV – Vírus Citomegálico Humano

HHV-5 – Herpesvirus Humano tipo 5

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

PCR – Reação em cadeia da polimerase

°C – Graus Celsius

µL – Microlitros

dNTP – Desoxinucleosídeo trifosfato

MgCL2 – Cloreto de Magnésio

DST – Doença sexualmente transmissível

HIV - Vírus Imunodeficiência Humana

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

hCG – gonodotrofina coriônica humana

Prevalência molecular de Citomegalovírus em biópsias placentárias em um hospital universitário no sul do Brasil

RESUMO

O Citomegalovírus (CMV) é um Herpesvírus e apresenta como principal característica a latência. Trata-se do vírus mais associado a infecções congênitas e sua transmissão vertical pode ocorrer em três períodos principais: intra-utero de maneira transplacentária, no parto pelo contato com secreções maternas e na amamentação que é a sua principal forma de transmissão vertical.. A infecção no primeiro trimestre pode causar aborto e a longo prazo ocasionar microcefalia, baixo peso ao nascer e prematuridade. Atualmente a infecção pelo CMV em gestantes não é diagnosticada de forma padronizada e o vírus geralmente não provoca sintomas, mas pode ser reativado de forma intermitente. Este trabalho tem como objetivo investigar a prevalência de CMV em biópsias de placenta de parturientes atendidas no Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr. (HU-FURG), no município de Rio Grande/RS. Foram coletadas 303 amostras de placenta, logo após o parto, incluindo parte fetal e materna de parturientes atendidas no Centro Obstétrico do Hospital Universitário (HU-FURG). A extração do DNA foi adaptada ao Kit comercial. Para detecção do CMV, foram realizadas técnicas de PCR com primers específicos, contando com controle positivo e negativo na reação. A visualização do CMV foi através de eletroforese em gel de agarose 2.0% e corados com loading, revelados com Brometo de Etídio e identificados por iluminação UV. A prevalência do DNA do CMV foi de 26 (8,6%) nas faces maternas das placentas. Entre estas 10 (38,4%) também o demonstraram na face fetal complementar. Evidencia-se assim a importância de alertar os profissionais da saúde a possibilidade de uma infecção fetal e neonatal por esse vírus.

Palavras-chave: transmissão vertical, infecção, placenta, CMV

Molecular prevalence of Cytomegalovirus in placental biopsies at a university hospital in southern Brazil

ABSTRACT

Cytomegalovirus (CMV) is a Herpesvirus and its main characteristic is the latency. It's the most associated virus with congenital infections and its vertical transmission can occur in three main periods: Intra-uterus transplacentally, in labor due to contact with maternal secretions and breastfeeding, which is the main form of vertical transmission. Infection in the first trimester can cause abortion and in the long term cause microcephaly, low birth weight and prematurity. Currently CMV infection in pregnant women is not diagnosed in a standardized way and the virus usually does not cause symptoms, but can be reactivated intermittently. This study aims to investigate the prevalence of CMV in pregnant women placental biopsies treated at Obstetric Center of the University Hospital Dr. Miguel Riet Correa Jr. (HU-FURG) in the city of Rio Grande / RS. 303 placenta samples were collected immediately after delivery, including fetal and maternal faces. The DNA extraction was adapted a commercial kit. For detection of CMV, PCR was performed with specific primers, with positive and negative controls in the reaction. The CMV visualization was by agarose gel electrophoresis 2.0% and stained with loading and identified by Ethidium Bromide and UV illumination. The prevalence of CMV DNA was 26 (8.6%) in the maternal placentas faces. Of these, 10 (38.4%) also demonstrated CMV DNA in additional their fetal faces. Thus, the importance of alerting health professionals to the possibility of a fetal and neonatal infection by this virus is evident.

Keywords: vertical transmission, infection, placenta, CMV

INTRODUÇÃO

Capítulo I CITOMEGALOVÍRUS

1.1 Histórico

Células contendo inclusões intracelulares foram demonstradas pela primeira vez em 1904 por Ribbert e, posteriormente em 1921, Lipschutz denominou tais sinais como “doença de inclusão citomegálica” (SANTOS, 2008; HO, 2008). O isolamento do agente viral ocorreu somente em 1956 (HO 2008): Smith o realizou a partir de glândulas salivares e rins de crianças com sintomas de infecção congênita; Rowe observou a partir de amostras de adenóides e por seguinte, Thomas Weller, a partir de urina de crianças com infecção congênita (SANTOS 2008). Em 1970 foi proposta por Weller a denominação de Citomegalovírus para substituir o nome de “doença de inclusão citomegálica” (MATOS 2011). Hoje é denominado Vírus Citomegálico Humano (HCMV) ou Herpesvirus Humano tipo 5 (HHV-5), também conhecido como Citomegalovirus (CMV), (SANTOS, 2008).

Atualmente o CMV se tornou um problema em casos de infecção congênita, sendo o principal responsável por mortalidade ou doenças no neonato. A infecção pelo vírus também é preocupante em indivíduos imunodeprimidos ou que foram submetidos a transplante de órgãos, neste último caso devido à imunossupressão terapêutica (CAMPOS, 2012).

O CMV é um vírus pertencente à família Herpesviridae, subfamília Betaherpesvirinae, gênero Citomegalovírus (BELTRAN & CRISTEA 2014). O vírus é linfotrópico, tem afinidade pelas glândulas salivares e endócrinas podendo infectar humanos e outros animais (SANTOS, 2008).

1.2 Morfologia e Síntese

A partícula viral possui estrutura típica dos herpesvírus, e contém o maior genoma medindo 200 nanômetros. Possui envelope contendo glicoproteínas, tegumento e capsídeo com proteínas e enzimas que atuam em sua replicação (Figura 1) (BELTRAN & CRISTEA, 2014). Seu material genético é composto por molécula de desoxiribunucleotídeos (DNA) de fita dupla linear, com aproximadamente 200.000 pares de bases (TAVARES et al., 2011).

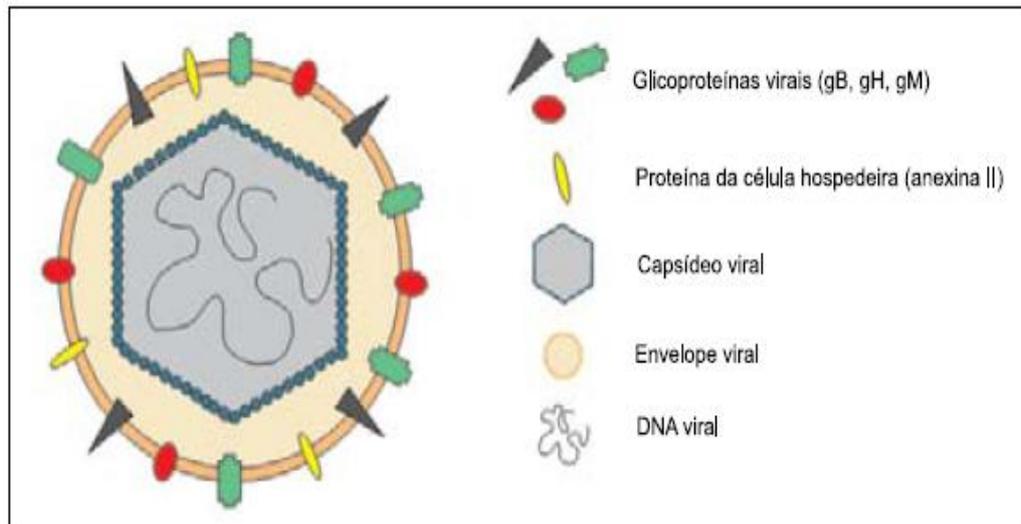


Figura 1 – CMV, componentes do vírus (Adaptado de Junqueira et al. 2008)

Para que ocorra a replicação o material genético viral deve atingir o núcleo da célula hospedeira através de várias etapas, entre elas, a adsorção das glicoproteínas do envelope com receptores na membrana celular hospedeira, fusão do envelope com a membrana celular para liberar o capsídeo e o genoma viral no núcleo da célula (SANTOS, 2008). O genoma apresenta ciclo de replicação longo, dividido em três fases: imediata, precoce e tardia (SCHLEISS, 2011). Sua expressão gênica ocorre em cascata, a qual permite a formação de novos vírus. Primeiramente os genes são transcritos para ocorrer a síntese de proteínas iniciais imediatas importantes para a regulação da transcrição gênica. A seguir, na fase precoce inicia-se a síntese de proteínas iniciais que consistem em fatores de transcrição e enzimas, incluindo entre outras a DNA polimerase a qual é necessária para o início da replicação do genoma viral na célula hospedeira. Subsequentemente, na fase tardia ocorre a síntese de proteínas estruturais (BELTRAN e CRISTEA, 2014; SÁNCHEZ et al., 2016). O genoma é transcrito por RNA polimerases e é regulado por fatores nucleares que determinam o curso da infecção. Durante a replicação viral, capsídeos vazios no núcleo são preenchidos com DNA do vírus, estes vírus então obtêm um envoltório e são transportados para fora da célula por exocitose (SANTOS, 2008).

2.3 Patogenia

O CMV pode ser excretado de forma intermitente pela saliva, sangue, secreções do trato genital, sêmen, urina e leite materno anos após a primo-infecção e também em caso de

reativação (CANNON et al. 2005; PEREIRA *et al*, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010). A transmissão do vírus ocorre pelo contato direto com fluidos corporais de indivíduos infectados, durante a gestação, ato sexual, e amamentação (HO, 2008; PASS & ANDERSON 2014). Através da corrente sanguínea ele dissemina-se a fim de infectar células de órgãos ou tecidos, incluindo pulmões, fígado, trato gastrointestinal, rins e cérebro, desenvolvendo inclusões nucleares (CHEN, 2006). O CMV também pode ser transmitido através de transplantes de órgãos sólidos e transfusões de sangue (ROCHA et al., 2012; MEDEIROS et al., 2007).

O tropismo celular facilita a disseminação do vírus no corpo humano (BELTRAN & CRISTEA, 2014). O CMV possui a capacidade de se replicar em vários tipos celulares como fibroblastos, macrófagos, células endoteliais, epiteliais, neuronais e musculares e possui grande afinidade pelas glândulas salivares e endócrinas. (SCHLEISS 2011; BELTRAN & CRISTEA 2014). Ele também infecta células de vários órgãos como pulmões, fígado, pâncreas, rins e cérebro e possui como característica as inclusões nucleares (SANTOS, 2008).

A infecção primária ocorre através do contato com o vírus pela primeira vez, ou seja, quem nunca apresentou a infecção anteriormente. A reinfecção ocorre quando o indivíduo possui anticorpos para o vírus, mas é reinfestado por uma nova cepa ou subtipo do vírus (CAMPOS, 2012).

A infecção por CMV é geralmente assintomática, porém sua excreção ocorre de maneira intermitente mesmo em indivíduos assintomáticos devido à imunidade diminuída ou reativação da infecção latente, o que permite sua replicação (PASS et al., 2014). A infecção aguda ocorre em pequena proporção de indivíduos infectados, no entanto em indivíduos imunodeprimidos, cuja resposta imunológica é comprometida, o vírus pode levar a morte. Pacientes receptores de transplante de órgãos, os quais utilizam terapia imunossupressora podem ter maior suscetibilidade à infecção pelo vírus. Em portadores de Vírus Imunodeficiência Humana (HIV) o CMV atua como uma infecção oportunista (BELTRAN et al., 2014). A infecção por esse vírus tem uma das maiores taxas de incidências de morbidade e mortalidade em pacientes HIV positivo, a prevalência é alta e pode levar a problemas graves como: alterações gastrointestinais, retinite, pneumonia, encefalite, polirradiculoneurite, neuropatia periférica, colite (TERRA 2000; LUCHETTI et al., 2015).

O CMV apresenta como principal característica no processo de infecção a latência, na qual o vírus se aloja no organismo do hospedeiro sem produzir ativamente novas partículas após a primeira infecção e utiliza células mielóides como sitio de latência (REEVES et al., 2012). Eventualmente o CMV pode sofrer reativação após estímulos, em condições de

imunossupressão, gravidez ou lactação, e se replicar em monócitos e em células glanglionares (OLIVEIRA, 2011).

2.4 Epidemiologia

O Citomegalovírus apresenta caráter endêmico e sem variação sazonal. A maior prevalência de infecção está associada com pessoas de nível socioeconômico inferior e o predomínio também aumenta com a idade (STARAS 2006; SANTOS 2008; TAVARES et al., 2011; PASS et al., 2014).

A incidência da infecção varia nas populações de acordo com área geográfica e com as condições socioeconômicas, assim como as condições de higiene e saneamento (TAVARES et al., 2011). A infecção pelo CMV ocorre em praticamente todo o mundo e no Brasil entre 90% e 95% das mulheres em idade fértil já tiveram contato com o vírus (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Provavelmente grande parte dos indivíduos em algum momento da vida será infectado pelo vírus, no entanto a idade para ocorrer o primeiro contato com o CMV pode variar nas diferentes regiões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

É o vírus mais associado com a infecção congênita e também a principal causa de perda auditiva na infância (GANDHI et al., 2009). No Brasil a estimativa é de que aproximadamente 1% dos neonatos são acometidos pela infecção congênita. A maioria não apresenta sintomas ao nascimento, porém podem desenvolver sequelas ao longo da vida, e cerca de 5 a 10% revelarão sinais clínicos envolvendo vários órgãos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2.5 Transmissão Vertical

Infecções durante a gestação apresentam risco de transmissão podendo causar sérios danos ao feto. Dependendo da imunidade da gestante, o vírus pode cruzar a barreira transplacentária e infectar o embrião ou feto, podendo causar malformações ou doenças congênitas (SANTOS, 2008).

Ao contrário da infecção perinatal, a infecção congênita pelo vírus pode causar sequelas aos neonatos. Cerca de 80% a 90% dos recém-nascidos infectados não apresentam sinais da doença citomegálica, entretanto restante dos neonatos podem apresentar sintomas clínicos graves da infecção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A transmissão vertical da mãe para o feto é uma das principais formas de infecção pelo CMV e efetua um importante papel na manutenção da infecção pelo vírus na população

em geral (KUMAZAKI et al., 2002). A primoinfecção materna pelo CMV durante a gestação é fator de risco de transmissão intrauterina ao feto, resultando em 40 a 50% dos casos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010), a reinfecção também pode ser transmitida ao neonato, porém as chances são menores (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010; ALKHAWAJA et al., 2012; YEDIDIA et al., 2016).

A infecção primária no neonato pode ser adquirida no início da vida uterina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). A maneira mais comum de transmissão aos neonatos é a infecção perinatal que consiste na transmissão pelo contato com secreções vaginais durante a passagem pelo canal do parto ou aleitamento (MARTINEZ, 2011).

O CMV é o vírus mais associado a infecções congênitas ocorrendo entre 0,5% a 2,0% dos recém nascidos (WU et al., 2011). É a causa mais freqüente de seqüelas no neonato atingindo principalmente o sistema nervoso central (SANCHEZ et al., 2016). Sua transmissão vertical pode ocorrer em três períodos principais: no pré-natal de maneira transplacentária, perinatal durante o parto pelo contato com secreções maternas e ou pós-parto, principalmente durante o aleitamento (MOURA et al., 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A transmissão transplacentária, envolve a capacidade do vírus em infectar a placenta e assim o líquido amniótico (LANZIERI et al., 2013). Existem várias rotas potenciais de infecção da placenta durante a gravidez, incluindo a infecção ascendente do trato genital, bem como a transmissão hematogênica (DINC et al., 2010; MCDONAGH 2006). A infecção ascendente pode ocorrer em casos de transmissão sexual, o vírus pode se espalhar pelo endométrio, endotélio vascular, células decíduais e citotrofoblastos que durante a gestação ancoram a placenta ao útero (MC DONAGH et al., 2004). A placenta é um reservatório para o CMV e possui um importante papel na transmissão vertical (KUMAZAKI *et al.*, 2002).

Os citotrofoblastos formam colunas de células das vilosidades de ancoragem e permanecem como células individuais que invadem o miométrio e realizam invasão intersticial e através da decídua se misturam às células imunes maternas (Figura 2). Eles permanecem em contato direto com o sangue materno para as trocas gasosas, nutrientes e produto de resíduos produzidos pelo feto (MC DONAGH et al., 2004). Segundo Mc Donagh e colaboradores (2004), este processo pode ser uma forma a transmissão de microorganismos, pois citotrofoblastos podem invadir a vasculatura uterina permitindo a passagem de sangue materno no espaço interviloso. E as células da decídua materna podem chegar aos vilos da parte fetal e assim ocorrer a transmissão do vírus para a placenta (MC DONAGH et al., 2004).

Durante a formação da placenta ocorre invasão endovascular, processo no qual ocorre um remodelamento da vasculatura uterina, os citotrofoblastos alteram a vasculatura

resultando em uma vasculatura composta por citotrofoblastos fetais e células de músculo liso maternas, a qual fornece sangue materno para a superfície das vilosidades da placenta, assim formam uma vasculatura híbrida. Este processo também pode ser precursor de infecções placentárias (MC DONAGH et al., 2004).

Fisher e colaboradores (2000), em um estudo com placentas infectadas, detectaram a proteína IE1 do CMV em células do citotrofoblasto, sinciciotrofoblasto, células endoteliais vasculares e macrófagos, corroborando com a idéia de que a transmissão de CMV ao feto ocorre através da placenta (FISHER et al., 2000). Os estudos também revelaram que o vírus infecta a decídua materna (Figura 2, da zona III, o local 1), células vasculares endoteliais linfáticas e citotrofoblastos endovasculares. O CMV também pode infectar os citotrofoblastos e vasos sanguíneos das vilosidades (Figura 2, zona 1, locais 2-4), (FISHER et al., 2000).

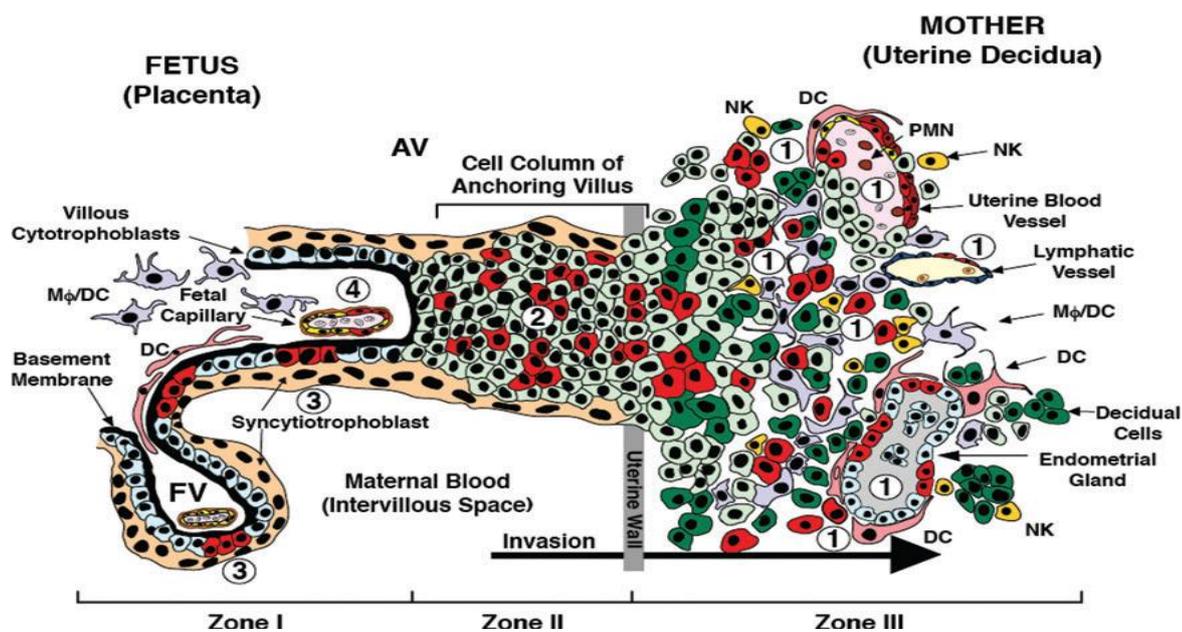


Figura 2 - Composição celular útero-placentária no início da gestação. (Zona I) vilosidades coriônicas em contato direto com o sangue materno; (zona II) Citotrofoblastos formam as colunas de células das vilosidades de ancoragem; (zona III) Diferenciação de citotrofoblastos, invadindo o estroma uterino e arteríolas; (zona III) Vasos sanguíneos, linfáticos e glândulas endometriais; Locais 1-4 onde ocorre a replicação do CMV. As células infectadas estão em cor vermelha. Abreviauras: AV, vilosidades de ancoragem; DC, de células dendríticas; MO, macrófagos; NK, células Natural Killer; PMN, neutrófilos polimorfonucleares. (Adaptado de PEREIRA et al. 2013).

As infecções no início da gestação aumentam as chances de transmissão para o feto por consequência elevam a probabilidade de doenças congênitas sintomáticas (MOURA et al, 2007; PEREIRA 2014), pois o feto está em fase crítica de desenvolvimento, podendo causar

prematuridade, baixo peso (MC DONAGH et al., 2006; PEREIRA et al. 2013), restrição do crescimento intra-uterino, retardo mental, retardo neuromotor, perda auditiva (NOZAWA et al., 2009), microcefalia ou aborto (PEREIRA et al. 2013). Já nas infecções ocorridas meses antes da concepção a taxa de transmissão do vírus ao feto é inferior, e raramente resulta em infecção congênita sintomática (ADLER et al., 2007; PASS & ANDERSON 2014).

Crianças nascidas de mães que sofreram infecção primária materna comparadas a crianças nascidas de mães que tiveram infecções secundárias ou reativação do CMV durante a gravidez, possuem maior probabilidade de doença congênita sintomática resultando em pior prognóstico e sequelas mais graves (ADLER et al., 2007; JUNQUEIRA et al., 2008; TAVARES et al., 2011; ALKHAWAJA et al., 2012). Este fato pode ser ratificado, pois durante a infecção primária não existem anticorpos IgG anti-CMV maternos que são os passam da mãe para o feto pela barreira transplacentária. A soropositividade (IgG +) ocorre após uma infecção primária, no qual o CMV estabelece latência (WANG et al., 2016). Durante a infecção primária a gestante primeiramente produz anticorpo IgM (marcador de infecção recente) contra o vírus e fatores inflamatórios que aumentam o risco de aborto e doença sintomática grave (JUNQUEIRA et al., 2008). Já as infecções recorrentes geralmente são assintomáticas devido a presença de anticorpos IgG materno, embora o indivíduo possa ser re-infectado com uma outra estirpe de CMV (NOZAWA et al., 2009; WANG et al., 2016).

Recém nascidos a termo podem ser menos suscetíveis a infecção pelo CMV, devido à passagem de anticorpos maternos durante o terceiro trimestre. No entanto, nos prematuros, o risco do desenvolvimento de doença citomegálica é mais elevado, por possuírem sistema imunológico imaturo (LANZIERI et al, 2013; SWANSON et al., 2013). A maioria destes nascem antes da fase de maior transferência de anticorpos que é a partir da 28^a semana de gestação, ou seja, terceiro trimestre (BRYANT et al., 2002). Segundo Lanzieri e colaboradores (2013), a prematuridade também aumenta o risco de infecções congênitas perinatais e infecções pós-natais podendo apresentar alterações neurológicas tardias (LANZIERI et al, 2013).

Outra fonte de infecção para o recém nascido é o leite materno (MARQUES et al., 2013; WU et al., 2011; YOO et al., 2015). O Vírus é comumente excretado pelo colostro de mulheres soropositivas, da primeira a oitava semana após o parto (NUMAZAKI, 2005; MARQUES et al., 2013). Em casos de prematuros ou que nasceram com baixo peso, são os mais suscetíveis a adquirir a citomegalia com sintomas clínicos graves como comprometimento respiratório, neutropenia e trombocitopenia (KURATH et al., 2010),

segundo Numazaki 2005, por apresentarem baixa concentração de anticorpos, assim como as crianças de baixo peso (NUMAZAKI, 2005).

Atualmente a infecção pelo CMV em gestantes não é diagnosticada de forma padronizada e o vírus geralmente não apresenta sintomas, mas pode ser reativado de forma intermitente (TAVARES, 2011). Não há consenso sobre o rastreamento desses vírus no pré-natal, embora o acompanhamento seja importante devido a sua elevada incidência (MOURA *et al*, 2007). Segundo Ministério da saúde (2010), a maioria das gestantes é assintomática durante a infecção primária ou recorrente. E o anticorpo IgM anti-CMV o qual representa infecção recente, pode ser detectado por um período de até seis meses, indicando uma infecção recente ou infecção que ocorreu antes da concepção. Além disso, a detecção de IgM também pode acontecer em casos de infecção recorrente. Portanto, a detecção de IgG e IgM não caracteriza a infecção primária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Não existe tratamento aprovado para gestante que previna a transmissão ao feto, assim a prática de testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-CMV durante o pré-natal não é recomendada no Brasil por não haver consenso quanto à efetividade do tratamento. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Segundo Ministério da saúde (2010), devido a alta prevalência infecção congênita pelo CMV, é importante que as gestantes sejam esclarecidas sobre as medidas para prevenção que reduzem o risco de infecção durante a gestação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2.6 Manifestações clínicas da Infecção por CMV em neonatos

O CMV é o vírus mais associado a infecções congênitas, e a maioria dos neonatos infectados congenitamente é assintomático, não apresentando sintomas clínicos da doença ao nascimento (SWANSON *et al.*, 2013). Entretanto, estas crianças podem desenvolver alguns sinais clínicos nos primeiros anos de vida, podendo apresentar sinais ou sequelas tardias e em longo prazo (MOURA *et al.*, 2007). Neste caso incluem atraso neuropsicomotor, crises convulsivas, perda auditiva e alterações neurológicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A infecção congênita pode resultar em restrição do crescimento intra-uterino, aborto, malformações, parto prematuro ou pode ser assintomática apresentando efeitos anos após a infecção (MARTINEZ 2011; TABATA *et al.*, 2015). Também podem ser apresentados outros sinais da infecção como, coriorretinite, problemas pulmonares, esplenomegalia e baixo peso ao nascimento (PALHARES & XAVIER, 2011).

Aproximadamente 10% dos recém nascidos apresentam sinais e ou sintomas da doença citomegálica ao nascer (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010, LANZIERI et al., 2013, BOPPANA 2013; SÁNCHEZ et al., 2016). As principais manifestações clínicas da infecção congênita pelo CMV incluem atraso mental ou motor, perda auditiva e doença citomegálica (MIURA et al. 2006; MOURA et al., 2007). Os sintomas clínicos incluem restrição no crescimento intrauterino, microcefalia hepatoesplenomegalia, calcificações cerebrais, hidropsia, icterícia, convulsões, trombocitopenia, petéquias e púrpura (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2011; LANZIERI et al., 2013; SWANSON et al., 2013; BOPPANA et al., 2013).

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo CMV pode ser determinado por técnicas como o isolamento do vírus por meio de cultura de fibroblastos, a identificação do DNA viral pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e testes sorológicos IgM anti-CMV e IgG anti-CMV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Para a detecção podem ser utilizadas amostras de urina, saliva, líquido amniótico ou outros fluidos corporais (KIM 2010; XAVIER 2012). O isolamento viral em cultura de fibroblastos é um método convencional, pois utilizando amostras de urina e saliva de neonatos proporcionam resultados em poucos dias devido a elevada concentração de vírus nestas amostras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A coleta de material por amniocentese pode ser realizada para o diagnóstico de infecção congênita, utilizando-se o método de PCR ou cultura para a detecção do CMV. Também podem ser realizados teste de visualização de alterações específicas pelo exame ultrassonográfico, que no caso, detectam as malformações já instaladas no feto, ou dosagem das imunoglobulinas IgM e IgG (MIRANDA et al., 2012).

Os testes sorológicos limitam o diagnóstico da infecção por CMV, estes proporcionam baixa sensibilidade e especificidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Além disso, tais testes são difíceis de interpretar, pois, grande parte das mulheres gestantes tem IgG antiCMV que é transmitido via transplacentária, assim, a presença de IgG no sangue do neonato não é obrigatoriamente indicativa de infecção congênita (MELLO et al., 2008).

A utilização de técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) é altamente sensível e tem maior especificidade para o diagnóstico de infecção (DINC et al., 2010). Embora a PCR não seja um método de rotina, esta possui

vantagens sobre os demais métodos, possibilitando rapidez da obtenção do resultado em comparação com o isolamento viral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

2.8 Prevenção

A infecção primária materna pode ser evitada durante a gestação através de mudanças de comportamento, entretanto, muitas mulheres desconhecem a infecção por CMV, inclusive qual o seu status sorológico para o vírus. A falta de conhecimento das gestantes é particularmente preocupante, a qual prejudica o controle da doença, pois a maneira mais eficaz de prevenção atualmente é através das boas praticas de higiene e evitando exposição à potenciais fontes do vírus CMV (SWANSON et al., 2013).

A transmissão do vírus se dá por contato com fômites contaminados ou indivíduos infectados. Crianças infectadas com CMV no início da vida tendem a eliminar o vírus por longos períodos após a primeira infecção, portando sendo os principais vetores para a transmissão do CMV, amplificando a transmissão horizontal. Desta maneira mulheres em idade fértil que estão em contato com crianças estão mais expostas à infecção (WU et al., 2011; WALDORF 2013).

De acordo com Ministério da saúde (2010), varias medidas de prevenção reduzem o risco de adquirir a infecção pelo CMV ou por outros agentes infecciosos durante a gestação. Essas medidas incluem lavar as mãos apos contato com pessoas, principalmente com as crianças, pois estas podem excretar o vírus na urina, saliva e fezes por longos períodos. Evitar aglomerações, reduzir o número de parceiros sexuais, uso de preservativo durante as relações sexuais e não compartilhar objetos de uso pessoal, principalmente pífuro-cortantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Capítulo II

PLACENTA

O desenvolvimento embrionário se realiza através da relação entre a gestante e o feto, e isso acontece através da placenta que exerce um importante papel no desenvolvimento fetal devido à atuação em funções fisiológicas. A placenta possui funções principais que incluem o transporte de gases respiratórios, nutrientes e água necessários para manter o embrião e o desenvolvimento fetal (JONSSON & POWELL 2007; MOORE 2012; ZHANG et al., 2015). É nela também que ocorrem outros processos fisiológicos como a excreção fetal de metabólicos e defesa imune permitindo a passagem de anticorpos maternos ao feto (DUMM 2006). Também apresenta função endócrina produzindo hormônios como gonadotrofina coriônica humana (hCG), estrogênios, progesterona e somatomamotrofina coriônica (DUMM 2006; SADLER 1995; JUNQUEIRA, 2013).

2.1 Estrutura e desenvolvimento da placenta humana

A placenta é um órgão constituído por porção fetal que se desenvolve a partir do saco coriônico e materna que se origina a partir do endométrio (MOORE, 2012). É um órgão discóide medindo em média 22 cm de diâmetro e pesa cerca de 500 g. A placa coriônica se localiza no lado fetal, onde se conecta o cordão umbilical e a placa basal se conecta ao endométrio (BURTON & FOWDEN 2015). Entre essas placas existe o espaço interviloso onde se encontram as vilosidades, e estas surgem a partir placa coriônica e são amplamente vascularizadas por uma rede capilar fetal. (BURTON & FOWDEN 2015). As vilosidades da face fetal ligam o cório fetal ao útero e nelas contém a vasculatura fetal (REGAL et al., 2015). O espaço interviloso se origina das locunas no sinciciotrofoblasto (MOORE, 2012).

A placenta é composta por duas faces, a fetal no qual é formada pelo cório viloso e face materna formada pela decídua basal. A parte fetal prende-se a materna pela capa citotrofoblástica e o seu desenvolvimento ocorre pela proliferação do trofoblasto e pelo desenvolvimento do saco coriônico e vilosidades coriônicas (MOORE, 2012). O trofoblasto constitui o tecido epitelial da placenta e também dá origem à células trofoblásticas extravilosas. A mesoderme forma o estroma da placenta, do qual se originam os fibroblastos, rede vascular e macrófagos (BURTON, 2015). Com o crescimento do saco coriônico, as vilosidades associadas a decídua se comprimem, essas vilosidades se degeneram produzindo o corion liso (MOORE, 2012).

O processo de desenvolvimento é gradual e ocorre com a diferenciação dos citotrofoblastos. As células trofoblásticas se diferenciam em vilosidades flutuantes e vilosidades de ancoragem coriônica. Nas vilosidades flutuantes, os citotrofoblastos se fundem com os sinciotrofoblastos que cobrem a superfície das vilosidades, e estes estão em contato com a circulação sanguínea materna. Nas vilosidades de ancoragem, os citotrofoblastos se reúnem em colunas de células individuais e invadem o endométrio e o miométrio, havendo uma invasão intersticial. Eles também estabelecem uma invasão endovascular, propagando-se em arteríolas maternas. Essa camada de células substitui o revestimento endotelial e a maioria do músculo liso da parede dos vasos, resultado em uma vasculatura composta por células fetais e maternas (FISHER et al., 2000).

A camada do endométrio gravídico é denominada decídua que se desprende durante o parto. A decídua se divide em três regiões de acordo com a implantação e são nomeadas como: decídua basal, decídua capsular e decídua parietal. Com o aumento dos níveis de progesterona, as células do tecido conjuntivo da decídua aumentam de tamanho formando células deciduais (DUMM, 2006; MOORE, 2012)

2.2 Membrana Placentária

A membrana placentária é composta por tecidos que separam a circulação materna e fetal. Até a 20ª semana a membrana é formada por sinciotrofoblasto, citotrofoblasto, tecido conjuntivo viloso e endotélio de capilares fetais. Após este período se formam ramificações vilosas que desenvolvem o citotrofoblasto, por seguinte as células citotrofoblásticas desaparecem permanecendo somente o sinciotrofoblasto. A membrana placentária se torna extremamente fina ao decorrer da gestação, tornando os capilares fetais mais próximos ao sangue materno no espaço interviloso (MOORE, 2012).

2.3 Anatomia dos anexos fetais

As membranas fetais são compostas por âmnio e cório. O âmnio está em contacto com o conteúdo do fluido amniótico, o feto e cordão umbilical. O âmnio é a membrana mais interna, em contato direto com o líquido amniótico. O cório é uma membrana que possui na sua face interna ao âmnio e na sua face externa à decídua (Figura 3), (FRAGA, 2013).

As vilosidades são de origem fetal e possuem estruturas que carregam vasos sanguíneos fetais para o espaço interviloso, é neste espaço onde ocorrem as trocas de substâncias entre a mãe e o feto (Figura 3). As vilosidades da placenta e o espaço interviloso

são revestidos por trofoblastos, e estes invadem a decídua materna para modificar as artérias espiraladas e aumentar o fluxo sanguíneo no espaço intervilloso (REGAL et al., 2015). O trofoblasto é a camada exterior da vilosidade e determina o contato entre o sangue materno e fetal. É a única célula fetal em contato com o sangue materno, sendo um importante local para possíveis infecções (REGAL et al., 2015).

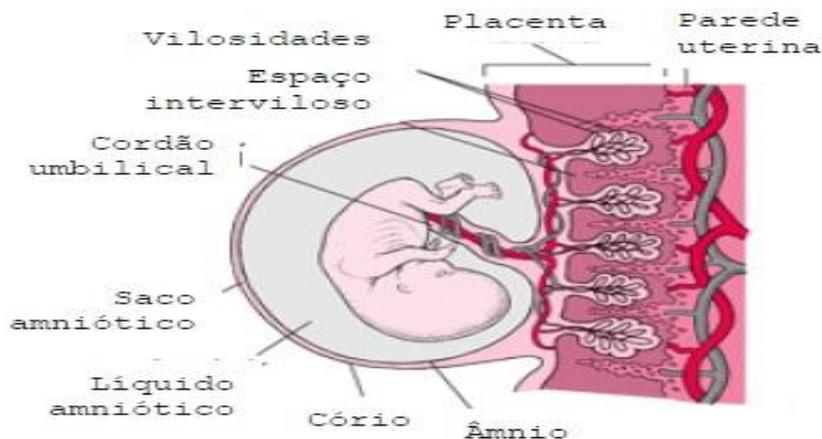


Figura 3 - Visão geral da placenta, membranas fetais e feto. (Adaptado de Fraga. 2013).

2.4 Circulação Placentária

No primeiro trimestre é estabelecido o fornecimento de sangue materno, no qual ocorre através de artérias espiraladas na decídua basal, estas fornecem sangue ao espaço intervilloso (Figura 4), (JONSSON & POWELL 2007). O sangue oxigenado materno chega ao endométrio pelas arteríolas espiraladas, estes penetram o trofoblasto e difundem o sangue nos espaços intervillósos (DUMM, 2006). O sangue chega ao espaço intervilloso através de lacunas citotrofobláticas (MOORE, 2012). As ramificações das vilosidades proporcionam maior área de superfície onde ocorrem as trocas através da membrana placentária (Figura 4). É através dessas ramificações que ocorrem as trocas de substâncias não havendo contato entre circulação sanguínea materna e fetal, pois as circulações são separadas por finas membranas placentárias constituídas por tecidos extrafetais (MOORE, 2012).

O sangue materno chega ao espaço intervilloso para fornecer nutrientes e oxigênio através dos vasos sanguíneos fetais e os anticorpos maternos de classe IgG atingem a circulação fetal por endocitose (REGAL et al 2015).

No lado fetal, o sangue venoso com baixa concentração de oxigênio e nutrientes provenientes do feto chega a placenta através de duas artérias umbilicais, segue pelos vasos coriônicos e capta o oxigênio nos capilares que formam uma rede nas vilosidades e sai da placenta através da veia umbilical (figura 3), (JONSSON & POWELL 2007).

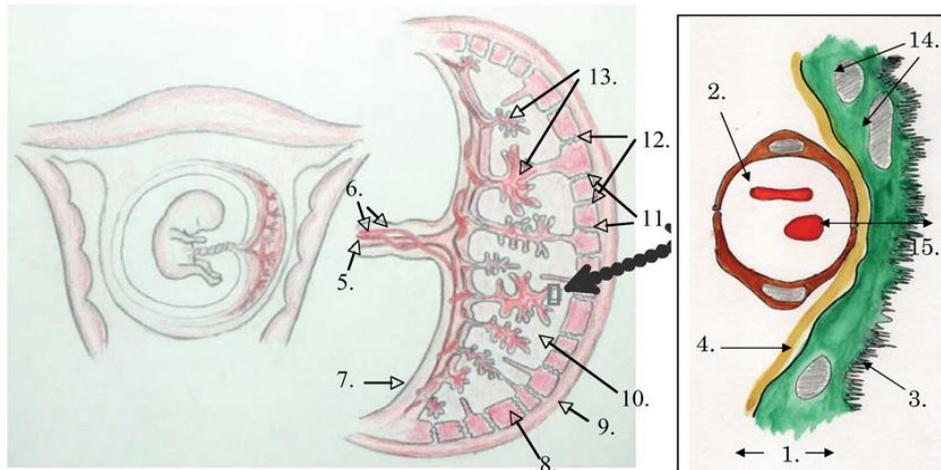


Figura 4- Estrutura da placenta humana. 1. trofoblasto; 2. capilar fetal; 3. microvilos 4. membranas plasmáticas basais; 5. veia umbilical; 6. artérias umbilicais; 7. cório; 8. decídua; 9. miométrio; 10. espaço intervilo com sangue materno; 11. veias; 12. artérias em espiral; 13. vilosidades; 14. trofoblasto; 15. distância para difusão entre materna e sangue fetal. Ampliação da membrana placentária a direita. (Adaptado de JONSSON & POWELL 2007).

2.5 Transporte placentário

A placenta e o cordão umbilical funcionam como um mecanismo de troca de gases e nutrientes entre a mãe e o feto. Esta tem como sua principal função o fornecimento de oxigênio e nutrição ao feto (ZHANG et al., 2015). O transporte de gases e nutrientes através da membrana placentária pode ocorrer através de processos passivos e ativos incluindo difusão simples e facilitada, endocitose, exocitose ou mediados por proteínas transportadoras. E as vilosidades permitem um aumento da capacidade de difusão (SIBLEY et al., 1998; BURTON & FOWDEN 2015).

A difusão de gases ocorre rapidamente, mas o fluxo depende do gradiente de concentração nas membranas das vilosidades. Este gradiente é determinado por fatores ambientais e pelo fluxo de sangue através da membrana (BURTON & FOWDEN 2015).

O feto adquire imunidade passiva pela transferência de anticorpos IgG maternos através da placenta, captados pelo sinciciotrofoblasto, assim adquirindo imunidade (SADLER, 1995). A placenta e as membranas fetais realizam função de proteção, nutrição, respiração, excreção e produção hormonal (MOORE, 2012).

Capítulo III

METODOLOGIA ESTENDIDA

3.1 Amostragem

A amostragem foi feita por conveniência e composta por parturientes que aceitaram participar do estudo. Parturientes menores de 18 anos que aceitaram, participaram mediante assinatura do responsável. Esse processo de coletas já é realizado pelo Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina desde 2011 e abrange a investigação de uma série de patógenos.

A amostragem foi composta por parturientes atendidas no Centro Obstétrico do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Jr, localizado no município do Rio Grande. As participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam a um questionário para coletar informações sócio-demográficas e fatores de risco. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do HU FURG, sob o número 54/2011.

3.2 Cálculo de tamanho da amostra

O cálculo da amostra foi obtido utilizando o programa Epi-info®, com base nas prevalências encontradas na literatura em estudos que utilizaram placentas (4% a 23,6%) para CMV, para um intervalo de confiança de 95% (KUMAZAKI et al., 2002; SATOSAR et al., 2004; McDONAGH et al., 2004; SYRIDOU et al., 2008, Al-BUHTORI, et al., 2011). Empregando a média de 2700 partos/ano no hospital estudado, foram utilizadas 303 amostras para que a pesquisa tenha maior poder epidemiológico.

3.3 Procedimentos experimentais

Foram coletadas biópsias de 303 placentas, logo após o parto, separadas em faces fetal e materna. A coleta de tecido placentário foi realizada com o auxílio de pinças e tesouras diferentes para cada face da placenta. Os fragmentos de diferentes partes da face fetal foram coletados e colocados em tubos contendo solução tampão. Este procedimento foi realizado novamente na face materna. O material coletado foi enviado para o Laboratório de Biologia Molecular da FAMED/FURG e armazenado a -20°C.

3.4 Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A extração do DNA do tecido da placenta foi adaptada a partir do kit Purelink Genomic DNA (Life Technologies, Carlsbad, CA). Brevemente, foram utilizados 160 µl de PBS e adicionados à amostra de tecido em ependorff de 1,5 µl, adicionado 20 µl de proteinase k, 200 µl de CDL e colocado em termobloco por 30 min em 56° C. Nessa primeira etapa do procedimento procura-se expor a células para que se tenha o material genético disponível, com auxílio de enzimas e alta temperatura para que haja a quebra de proteínas e exposição do material genético. Após esse período foi adicionado 20 µl de RNase A e colocado em termobloco por 10 min. 250 µl foi adicionado e então retirado o líquido sobrenadante e colocado em tubos com filtro e centrifugado a 9.000 RPM por 1 min. Dentro do tubo com filtro foi adicionado CWD e centrifugado por 2 min a 12.000 rpm, este último processo foi repetido por duas vezes. Logo 100 µl de nuclease-free water foi adicionado ao filtro e centrifugado por 1 min a 12.000 rpm. Na segunda etapa, é realizada lavagem e centrifugação das amostras para se obter um DNA mais limpo e puro, livre de proteínas, aminoácidos e RNA. Os fragmentos foram visualizados por meio de luz UV através do Transluminador LPIX® após eletroforese em gel de agarose 0,8%, corados com Bluee Green.

Para determinação do CMV, os ensaios de PCR foram realizados de acordo com o protocolo adaptado a partir de Kumazaki *et al*, 2002. A reação de PCR foi composta de 5 µL do DNA molde. Os reagentes utilizados na reação foram: 1,5 mM MgCl₂, 0,5 mM de primers, 0,2 mM dNTP, Buffer 1x, 1 U de enzima Taq DNA polimerase e água milique. Os ensaios de PCR foram realizados em um termociclador com as seguintes ciclagens: etapa inicial de desnaturação a 94° C por 4 minutos, seguido por 35 ciclos nas seguintes condições: 94° C, 30 segundos, 64 °C, 60 segundos, 72° C, 60 segundos e 72 °C, 5 minutos e mais uma ciclagem de extensão final a 10 ° C.

Duas regiões diferentes do CMV foram amplificadas: parte do gene imediato precoce (IE) e o gene da fosfoproteína 71 (pp71). O IE pertence a uma família de genes do vírus que são os primeiros a serem expressos no caso de uma infecção primária ou reativação (STENBERG *et al.*, 1983). O gene pp71 é responsável pela produção da fosfoproteína 71, presente no envelope do vírus (RUGER *et al*, 1987). As seqüências de *primers* que foram utilizadas são:

Genes	Sequência (senso e anti-senso)	Amplificação
Imediato Precoce (IE):	5'TATACCCAGACGGAAGAGAAATTCA3' 5'ATAAGCCATAATCTCATCAGGGGAG3'	426pb
pp71	5'TGACGCGCATACATCCCGAGTACAT3' 5'ATGACGTTGCTCCGTGGAAAGAGACC3'	316pb

As amostras foram processadas com controles positivo comercial, negativo e branco em cada reação. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com loading, revelados com Brometo de Etídio e identificados por iluminação UV.

3.5 Análise Estatística

As estatísticas dos dados foram codificados através do *software Microsoft Excel* e a sua validação ocorreu mediante dupla digitação. Para a análise dos dados foi utilizado o *software* estatístico *SPSS for Windows* versão 12.0 (*Software Statistical Package for Social Sciences*).

ARTIGO

Revista The Brazilian Journal of Infectious Diseases

Prevalência molecular de Citomegalovirus em biópsias placentárias em um hospital universitário no sul do Brasil

J. M. ÁVILA^a, E.C.ÁVILA^a, F.F. JARDIM^a, R.COSTA^a, R.C. LOBATO^a, C.V. GONÇALVES^b, V.P. HORA^{a,b}, A.M.B. MARTINEZ^{a,b}

^a Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina Universidade Federal de Rio Grande

^b Docente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Rio Grande

RESUMO

Introdução: O Citomegalovírus (CMV) é um Herpesvírus e apresenta como principal característica a latência. Trata-se do vírus mais associado a infecções congênitas. A infecção durante o primeiro trimestre de gestação é o mais prejudicial, pois o feto está em fase crítica de desenvolvimento, podendo causar prematuridade, baixo peso, microcefalia e aborto.

Objetivos: investigar a prevalência de CMV em biópsias de placenta de parturientes atendidas no Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr. (HU-FURG), no município de Rio Grande/RS.

Métodos: foram coletadas 303 amostras de placenta, logo após o parto, incluindo parte fetal e materna de parturientes atendidas no Centro Obstétrico do Hospital Universitário (HU-FURG). A extração do DNA foi realizada com Kit comercial, de acordo com as instruções do fabricante. Para detecção do CMV, foram realizadas técnicas de PCR com primers específicos, contando com controle positivo e negativo na reação. A visualização do CMV foi através de eletroforese em gel de agarose 2.0% e identificados por iluminação UV.

Resultados: A prevalência do DNA do CMV foi de 8,6% (26) nas faces maternas das placentas. Entre estas 10 (38,4%) também o demonstraram na face fetal complementar.

Conclusão: Este trabalho contribui para o entendimento da infecção pelo vírus como uma infecção importante que pode prejudicar a saúde dos neonatos. Evidenciando a importância de alertar os profissionais da saúde para a prevenção principalmente das gestantes, devido à possibilidade de infecção fetal e neonatal por esse vírus.

Palavras chaves: infecção, neonato, transmissão vertical, placenta

INTRODUÇÃO

O Citomegalovírus (CMV) é um vírus pertencente à família Herpesviridae, subfamília Betaherpesvirinae, gênero Citomegalovírus.¹ A transmissão do vírus ocorre pelo contato direto com fluidos corporais de indivíduos infectados, durante a gestação, ato sexual, e amamentação.^{2,3} O CMV apresenta como principal característica no processo de infecção a latência, na qual o vírus se aloja no organismo do hospedeiro sem produzir ativamente novas partículas, após a primeira infecção e utiliza células mielóides como sitio de latência.⁴

A transmissão vertical da mãe para o feto é uma das principais formas de infecção pelo CMV e efetua um importante papel na manutenção da infecção pelo vírus na população em geral.⁵ A primoinfecção materna pelo CMV durante a gestação é fator de risco de transmissão intrauterina ao feto, resultando em 40 a 50% dos casos,⁶ a reinfecção também pode ser transmitida ao neonato, porém as chances são menores.^{6,7,8}

O CMV é o vírus mais associado a infecções congênitas ocorrendo entre 0,5% a 2,0% dos recém nascidos.⁹ É a causa mais freqüente de seqüelas no neonato atingindo principalmente o sistema nervoso central.¹⁰ Sua transmissão vertical pode ocorrer em três períodos principais: no pré-natal de maneira transplacentária, perinatal e ou pós-parto, durante o aleitamento.^{6,11} A maneira mais comum de transmissão aos neonatos é a infecção perinatal que consiste na transmissão pelo contato com secreções vaginais durante a passagem pelo canal do parto ou aleitamento.¹²

É comprovado que a placenta é um reservatório para a transmissão vertical do CMV. No Sistema Único de Saúde (SUS) não é realizada a triagem deste vírus em mulheres grávidas, no entanto, é importante alertar os profissionais de saúde sobre o vírus e a possibilidade de transmissão vertical, pois ele é assintomático na maioria das vezes e medidas de prevenção devem ser informadas principalmente às gestantes.

Portanto, torna-se importante a investigação da prevalência deste vírus em placentas de gestações saudáveis, para se conhecer a prevalência desse vírus e ressaltar a possibilidade de sua transmissão vertical. Este estudo tem por objetivo estimar a prevalência do Citomegalovírus (CMV) em placentas de parturientes atendidas no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande.

METODOLOGIA

Amostragem e Aspectos Éticos

A amostragem foi composta por parturientes atendidas no Centro Obstétrico do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Jr. que assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam a um questionário auto-aplacável para coletar informações sócio-demográficas e fatores de risco. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do HU FURG, sob o número 54/2011.

Procedimentos experimentais:

Extração do DNA a partir das biópsias de placenta

Foram coletadas biópsias de 303 placentas, logo após o parto, separadas em faces fetal e materna. O material coletado foi armazenado e mantido sob refrigeração. A extração do DNA do tecido da placenta foi realizada de acordo com o kit Purelink Genomic DNA (Life Technologies, Carlsbad, CA). Para confirmar o sucesso da extração fragmentos foram visualizados por meio de luz UV através do Transluminador LPIX® após eletroforese em gel de agarose 0,8%, corados com Bluee Green.

Amplificação do DNA do CMV por PCR

Para determinação do CMV, foram utilizadas as amostras de biópsia da face materna de placenta. Os ensaios de PCR foram realizados de acordo com o protocolo e adaptado de Kumazaki *et al*, 2002. Duas regiões diferentes do CMV foram amplificadas: parte do gene imediato precoce (IE) e o gene da fosfoproteína 71 (pp71). As seqüências de *primers* utilizadas foram: **Imediato Precoce (IE):** 5'TATACCCAGACGGAAGAGAAATTCA3'; 5'ATAAGCCATAATCTCATCAGGGGAG3' para amplificar um fragmento de 426pb. **pp71:** 5'TGACGCGCATAACATCCCGAGTACAT3'; 5'ATGACGTTGCTCCGTGGAAAGAGACC3' para amplificar um fragmento de 316pb (Kumazaki *et al*, 2002).

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com loading, revelados com Brometo de Etídio e identificados por iluminação UV. Todos os resultados para o vírus foram repetidos para confirmação, sempre contando com

controles positivos, negativos e branco para cada reação, bem como foi verificada a presença do DNA do CMV na face fetal complementar, quando positivo.

Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do *software* SPSS for Windows versão 12.0 (*Software Statistical Package for Social Sciences*).

RESULTADOS

Foram analisadas 303 amostras de tecido placentário, das parturientes estudadas 26 (8,6%) apresentaram DNA do CMV na face materna. Entre estas 10 (38,4%) também o demonstraram na face fetal complementar.

As amostras foram coletadas de placentas de mulheres em sua maioria com companheiro (77,9%), com média de idade de 25 anos, e os seus dados socioeconômicos estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Perfil Sociodemográfico das parturientes estratificados de acordo com a prevalência do DNA do CMV pelo método de PCR na placenta. Rio Grande, 2016.

Variável (n)	n (%)*	CMV+ n (%)*	CMV - n(%)*
Idade (anos)			
≤20	81 (29,1%)	7 (2,5%)	74 (26,6%)
21-30	138 (49,6%)	15 (5,4%)	123 (44,2%)
31-40	59 (21,1%)	3 (1,1%)	56 (20,1%)
Total*	278	25 (9%)	253 (91%)
Cor			
Branca	165 (58,9%)	13 (4,6%)	152 (54,3%)
Não Branca	115 (41,1%)	11 (3,9%)	104 (37,1%)
Total*	280	24 (8,6%)	256 (91,4%)
Estado Civil			
Sem companheiro	62 (22,1%)	6 (2,1%)	56 (20,0%)
Com companheiro	218 (77,9%)	19 (6,8%)	199 (71,1%)
Total*	280	25 (8,9%)	255 (91,1%)
Nível Escolar (anos)			

≤8	125 (45,6%)	8 (2,9%)	117 (42,7%)
≥9	149 (54,4%)	15(5,5%)	134 (48,9%)
Total*	274	23 (8,4%)	251 (91,6%)
Renda (salários)^a			
≤1	62 (24,7%)	10 (4%)	52(20,7%)
≥2	97 (38,6%)	8 (3,2%)	89 (35,5%)
Acima de 2 salários	92 (36,7%)	5 (2,0%)	87 (34,7%)
Total*	251	23(9,2%)	228 (90,8%)

* De acordo com o total de respondentes.

^a referente ao salário mínimo vigente no Brasil, durante a pesquisa.

Entre as amostras positivas para o CMV, a maioria era de parturientes com idade entre 21 a 30 anos (57,7%), com companheiro (73,1%) e que possuíam renda igual ou inferior a um salário mínimo (38,5%).

Em relação às informações ginecológicas, (55,3%) das parturientes relataram não fazer uso de preservativo e (8,4%) relataram algum tipo de doença sexualmente transmissível (DST). Seus dados obstétricos estão descritos na tabela 2.

Tabela 2: Dados Ginecológicos e obstétricos das parturientes atendidas no HU-FURG estratificados de acordo com a prevalência do DNA do cmv nas placentas materna e fetal. Rio Grande, 2016.

Variável (n)	n (%)*	CMV+ n (%)*	CMV - n(%)*
Uso de preservativo			
Sim	123 (44,7%)	12 (4,4%)	111 (40,4%)
Não	152 (55,3%)	13 (4,7%)	139 (50,5%)
Total*	275	25 (9,1%)	250 (90,9%)
DST			
Sim	23 (8,4%)	1 (0,4%)	22 (8%)
Não	251 (91,3%)	24 (8,7%)	227 (82,5%)
Não sabe	1 (0,4%)	0	1(0,4%)
Total*	275	25 (9,1%)	250 (90,9)
Nº de gestações			
Primigesta	106 (38,5%)	11 (4.0%)	95(34,5%)
Secundigesta	79 (28,7%)	6 (2,2%)	73 (26,5%)

+3 (multigesta)	90 (32,7%)	7 (2,5%)	83 (30,2%)
Total*	275	24 (8,7%)	251(91,3%)
Nº de Abortos			
0	203 (84,2%)	10 (4,1%)	193 (84,2%)
1	30 (12,4%)	2 (0,8%)	28 (11,6%)
2	8 (3,3%)	1 (0,4%)	7(2,9%)
Total*	241	13 (5,4%)	228 (94,6%)
Tipo de Parto			
Vaginal	118 (41,4%)	11 (3,9%)	107 (37,5%)
Vaginal+fórceps	6 (2,1%)	0	6 (2,1%)
Cesárea	161 (56,5%)	14 (4,9%)	147 (51,6%)
Total*	285	25 (8,8%)	260 (91,2%)
Tempo de ruptura (min)			
<360	154 (68,8%)	10 (4,5%)	144 (64,3%)
361 <X< 720	35 (15,6%)	6 (2,7%)	29 (12,9%)
>721	35 (15,6)	2 (0,9%)	33 (14,7%)
Total*	224	18 (8%)	206(92%)
Capurro (semanas)			
≤37	38(14,6%)	4 (1,5%)	34 (13,1%)
Maior ou = 38	222 (85,4%)	19 (7,3%)	203 (78,1%)
Total*	260	23 (8,8%)	237 (91,2)
Peso RN			
Menor que 2499	43 (14,2%)	4 (1,4%)	39 (13,7)
Maior que 2500	241 (79,5%)	21 (7,4%)	220 (77,5%)
Total*	284	25 (8,8%)	259 (91,2%)

* De acordo com o total de respondentes.

De acordo com os dados ginecológicos, as parturientes que tiveram biópsia de placenta contendo DNA do CMV detectado por PCR, reportaram ter algum tipo de DST (3,9%). Quanto ao uso de preservativo (50,0%) relataram não fazer uso deste. A sua maioria eram gestantes primigestas (42,3%) e realizaram cesárea (53,8%). O tempo de gestação em semanas foi maior ou igual a que 38 semanas (73,1%) e o peso dos recém nascidos era maior que 2,500 Kg na maioria dos casos positivos (80,8%).

DISCUSSÃO

A transmissão vertical da mãe para o feto é uma das principais formas de infecção pelo CMV e efetua um importante papel na manutenção da infecção pelo vírus.⁵ Neste estudo com 303 biópsias de placenta foi verificada a frequência de (8,6%) do DNA do vírus CMV na face materna da placenta por técnica molecular. Kumazaki e colaboradores (2002), em um estudo utilizando placentas foi encontrado 23,6% de DNA do vírus.

Neste trabalho as faces maternas que possuíam DNA do CMV foram então especuladas a face fetal e dessas 38,4% possuíam DNA do vírus, mostrando assim que a placenta embora atue como uma barreira existe a possibilidade de transmissão, ou seja, ela possui um papel importante na possibilidade de transmitir o vírus para o feto.

McDonagh e colaboradores (2006) também utilizando placentas de gestações saudáveis verificaram o DNA viral em 62% das placentas. As amostras de placentas foram coletadas de 78 mulheres que estavam em trabalho de parto ou cesária. Imediatamente após o parto, cinco amostras de cada placenta foram coletadas, sendo uma central e quatro da região periférica, 41% das amostras apresentaram baixos níveis de DNA viral, detectado em apenas uma ou duas das cinco amostras de biópsia e 21% apresentaram o DNA do CMV no qual foi detectado em três a cinco amostras de biópsias.¹² Diferentemente desse trabalho, utilizando outra metodologia McDonagh encontrou uma alta prevalência do CMV, mas com um padrão diferente de infecção, sendo que algumas partes da placenta possuíam do DNA do vírus e outras não. Segundo McDonagh e colaboradores (2006), os padrões de infecção sugerem que a via de transmissão é do sangue materno para os citotrofoblastos e o CMV pode se difundir para as células estromais da circulação fetal.¹² Todas as placentas utilizadas no estudo eram saudáveis, porém obteve um caso confirmado de infecção congênita por CMV sintomático mostrando defeitos na morfologia do sinciciotrofoblasto, hemorragia e infiltração de leucócitos. Eles utilizaram técnicas combinadas através de biópsias de placenta, sangue do

cordão e o padrão de replicação de proteínas, e sugeriu no seu estudo que 5 a 9 % dos neonatos poderiam ter CMV assintomático, comprovando a importância do papel da placenta como reservatório de vírus. De acordo com os estudos citados, cada um com uma metodologia, os resultados deste trabalho podem ter sido influenciado de acordo com o tipo de coleta que foi realizada, embora seja o primeiro a investigar este vírus nesta população e nesta região.

Syridou e colaboradores (2008) pesquisaram vários vírus em casos de morte fetal intrauterina, diferentemente de MCDonagh e colaboradores (2006), Kumazaki e colaboradores (2002) e do que foi feito em nosso estudo. Syridou utilizou placentas de gestações que resultaram em aborto, e comparou 62 tecidos de casos de morte fetal com 35 saudáveis, utilizando apenas a face fetal da placenta no estudo e os tecidos eram da placa coriônica incluindo vilosidades da face fetal. No grupo de morte fetal o CMV foi detectado em 16%, e nas placentas a termo o vírus foi detectado em 3%.¹³ No seu trabalho foi comparado o grupo controle de nascidos de gestações saudáveis com placentas resultantes de morte fetal, e os vírus estudados bem como o CMV foi associado à morte fetal uterina. Destacando que o CMV esteve presente em 16% no grupo em que houve morte uterina e no grupo controle em apenas 3%. Assim como no presente trabalho, os dois grupos tinham aspectos demográficos semelhantes.

Como confirmado em outros estudos, o CMV é relacionado a casos de aborto.^{11,14} Estes estudos demonstram que a presença do vírus na placenta é frequente e ressaltam a importância da atenção para a infecção durante a gestação devido às complicações neonatais causadas pelo CMV.

As infecções primárias aumentam as chances de transmissão para o feto por consequência elevam a probabilidade de doenças congênitas sintomáticas.¹¹ E em casos de primoinfecção as chances de transmissão ao feto são elevadas e ocorrem entre 20 a 40% dos incidentes.¹⁵ Essas incidências são preocupantes devido à possibilidade de infecções severas e desenvolvimento de sequelas ou morte do neonato.

A prevenção é a maneira mais eficaz de reduzir os riscos de infecção principalmente durante a gestação. Para isso é importante que os profissionais da saúde orientem as gestantes sobre formas de contágio e prevenção da infecção pelo CMV. Principalmente para o uso de preservativo durante a gestação que é essencial para prevenir os riscos de infecção e transmissão vertical do vírus CMV, bem como outros patógenos que são um problema de

saúde pública como o HIV e sífilis. Em casos suspeitos de infecção congênita fetal por este vírus é importante realizar exames no recém-nascido e dar maior atenção principalmente aos prematuros.

Este estudo apresentou como resultado a prevalência do DNA do vírus de 8,6%, diferente dos estudos citados anteriormente, no entanto é a primeira que se faz este trabalho com placentas na região estudada e não se tinha conhecimento da prevalência desse vírus na placenta. Levando-se em conta que cada região pode apresentar uma característica.

As limitações do estudo incluem a falta de sorologia das gestantes, pois o resultado de prevalência de CMV em placentas pode ser porque a área estudada possui menos mulheres infectadas pelo vírus.

Em conclusão essa investigação a partir da metodologia escolhida permitiu verificar fatores importantes da transmissão, que contribuem para o entendimento da infecção pelo CMV como uma infecção importante, que pode levar a agravos na saúde dos neonatos.

AGRADECIMENTOS

À FURG, ao Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário (HU-FURG), por ter feito este estudo possível, à Comissão de Aperfeiçoamento de pessoal do Nível superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo apoio financeiro ao longo da pesquisa.

CONFLITO DE INTERESSES

Destaca-se aqui que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. BELTRAN P, CRISTEA IM. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert Rev Proteomics* 2014; 11(6): 697–711.
2. HO M. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Med Microbiol Immunol.* 2008; 197:65–73.
3. PASS RF, ANDERSON B. Mother-to-Child Transmission of Cytomegalovirus and Prevention of Congenital Infection. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society.* 2014; Vol. 3, Suppl 1, pp. S2–S6.
4. REEVES M, BREIDENSTEIN A, COMPTON T. Human cytomegalovirus activation of ERK and myeloid cell leukemia-1 protein correlates with survival of latently infected cells. *Infectious Diseases–Virology.* 2011; vol. 109 | no. 2.
5. KUMAZAKI K, OZONO K, YAHARA T, WADA Y, SUEHARA N, TAKEUCHI M, NAKAYAMA M. *Journal of Medical Virology.* 2002; 68:363–369.
6. MINISTÉRIO DA SAUDE. GOVERNO FEDERAL. Manual técnico da Gestação de Alto Risco.5 ed. 2010. Disponível em http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf.
7. ALKHAWAJA S, ISMAEEL AY, BOTTA GA, SENOK AC. The Prevalence of Congenital And Perinatal Cytomegalovirus Infections Among Newborns of Seropositive Mothers. *J Infect Dev Ctries.*2012; 5(6):410-415.
8. YEDIDIA YE, MEIR MB, HILLEL M, ABITBOL, BROIDE E, FALK R, ASSOUS M, SCHLESINGER Y. Low Interferon Relative-Response to Cytomegalovirus Is Associated with Low Likelihood of Intrauterine Transmission of the Virus. 2016; *PLOS ONE* | DOI:10.1371.
9. WU CA, PAVEGLIO SA, LINGENHELD EG, ZHU L, LEFRANCOIS L, PUDDINGTON L. Transmission of Murine Cytomegalovirus in Breast Milk: a Model of Natural Infection in Neonates. *JOURNAL OF VIROLOGY.*2011; May 2011, p. 5115–5124.
10. SÁNCHEZ HMG, SILVA-RAMÍREZ AS, CAMPO CCM. Modulaci n de la apoptosis por citomegalovirus en la perspectiva del sistema nervioso central. *Rev Chilena Infectol.* 2016; 33 (1): 44-54.
11. MOURA JU, MORAES GB, CAPIOTTI MP, SILVA R, LEAL DB. Prevalência sorológica de anticorpos anticmv em gestantes da região oeste de Santa Maria, RS. *Disc. Scientia.* 2007; Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 33-39.

12. MARTINEZ AS, MARTINEZ A, TEATINO P, GRANGER J, Diagnostico de infección congênita. *Enferm Infecc Micribiol Clin* 2011, (supl 5):15-20.
13. MCDONAGH S, MAIDJI E, CHANG H, PEREIRA L. Patterns of human cytomegalovirus infection in term placentas: A preliminary analysis. *Journal of Clinical Virology*. 2006; 35, 210–215.
14. SYRIDOU G. Detection of Cytomegalovirus, Parvovirus B19 and Herpes Simplex Viruses in Cases of Intrauterine Fetal Death: Association With Pathological Findings. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80:1776–1782.
15. ADLER S, NIGRO G, PEREIRA L. Recent Advances in the Prevention and Treatment of Congenital Cytomegalovirus Infections. Elsevier Inc. 2007; All rights reserved. doi:10.1053
16. PEREIRA L, MAIDJI E, MCDONAGH S, LENORE TT. Insights into viral transmission at the uterine–placental interface. *Trends in microbiology*. 2005; v. 13, n. 4, p. 164-174.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo investigar a prevalência do DNA do CMV em placentas de parturientes atendidas em um hospital universitário no sul do Brasil. Foi encontrada uma prevalência molecular do vírus de 8,6% na amostra estudada, evidenciando a presença do CMV na placenta. A presença do vírus não evidencia a transmissão vertical, porém indica um risco de transmissão intraútero.

A presença do CMV foi detectada em amostras de placentas de parturientes com idade média de 25 anos, o que indica a infecção durante a idade fértil, sendo uma preocupação devido à possibilidade de transmissão vertical. Segundo relataram eram mulheres que possuíam parceiro fixo e que não faziam uso de preservativo. A análise estatística foi descritiva das parturientes incluindo seus aspectos demográficos, ginecológicos e obstétricos.

Este estudo expõe a importância da detecção do CMV como causador de infecções congênitas, seu risco de transmissão vertical, o que pode aumentar a possibilidade de doenças congênitas. Permitiu verificar a incidência de CMV em placentas e contribuiu para o entendimento da adaptação do vírus ao tecido placentário, a qual deve ser considerada importante devido à possibilidade de transmissão vertical e infecção que comprometem a saúde dos neonatos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, S, G NIGRO, L PEREIRA. 2007. Recent Advances in the Prevention and Treatment of Congenital Cytomegalovirus Infections. Elsevier Inc. All rights reserved. doi:10.1053.
- ALKHAWAJA, S, AY ISMAEEL, GA BOTTA, AC SENOK. 2012. The Prevalence of Congenital And Perinatal Cytomegalovirus Infections Among Newborns of Seropositive Mothers. *J Infect Dev Ctries* 5(6):410-415.
- AL-BUHTORI, M, M LYNETTE, B EMYR, C ROBERT. 2011. Viral Infection in Hydrops Fetalis, Spontaneous Abortion and Unexplained Fetal Death in útero. *Journal of Medical Virology* 83, 4 (2011) 679.
- BRYANT, P, C MORLEY, S GARLAND, N CURTIS. Cytomegalovirus transmission from breast milk in premature babies: does it matter? 2002. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*;87:F75–F77.
- BOPPANA, SB, SA ROSS, KB FOWLER. 2013. Congenital Cytomegalovirus Infection: Clinical Outcome. *Clinical Infectious Diseases* 2013;57(S4):S178–81.
- BRETT , KE, ZM FERRARO, JN YOCKELL-LELIEVRE , A GRUSLIN, KB ADAMO. 2014. Maternal–Fetal Nutrient Transport in Pregnancy Pathologies: The Role of the Placenta. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 16153-16185;
- BELTRAN, P, IM CRISTEA. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. 2014. *Expert Rev Proteomics*; 11(6): 697–711. doi:10.1586/14789450.2014.971116.
- BURTON, GJ, AL FOWDEN. 2015. The placenta: a multifaceted,transient organ. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140066.
- CAMPOS, A RS. 2012. Transmissão do Vírus Citomegálico Através do Aleitamento Materno em Prematuros. Departamento de Microbiologia, CEDOC, Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa, Portugal.
- DINC, B, G BOZDAYI, A BIRI, A KALKANCI, B DOGAN, N BOZKURT, S ROTA. 2010. Molecular detection of cytomegalovirus, herpes simplex virus 2, human papillomavirus 16-18 in Turkish pregnant. *Braz J Infect Dis* 2010;14(6):569-574.
- DUMM, CG. 2006. *Embriologia Humana: Atlas e Texto*. Guanabara Koogan.

- FISHER, S, O GENBACEV, E MAIDJI, L PEREIRA. 2000. Human Cytomegalovirus Infection of Placental Cytotrophoblasts In Vitro and In Utero: Implications for Transmission and Pathogenesis. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Aug. 2000, p. 6808–6820.
- FRAGA, LFR. 2013. Exame microscópico do cório placentário para o diagnóstico rápido de infecção amniótica. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.
- HO, M. 2008. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Med Microbiol Immunol* (2008) 197:65–73.
- JANSSON, T, TL POWELL. 2007. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clinical Science* (2007) 113, 1–13.
- JUNQUEIRA, LC, 2008. *Histologia Básica*. Ed Guanabara Koogan p. 446.
- JUNQUEIRA, JJM, TM SANCHO , VA SANTOS. 2008. Citomegalovírus: Revisão dos Aspectos Epidemiológicos, Clínicos, Diagnósticos e de Tratamento. *NewsLab* - edição 86.
- KURATH,S, G HALWACHS-BAUMANN, W MULLER, B RESCH. 2010. Transmission of cytomegalovirus via breast milk to the prematurely born infant: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1172–1178 10.1111/j.1469-0691.2010.03140.
- KUMAZAKI, K, K OZONO, T YAHARA, Y WADA, N SUEHARA, M TAKEUCHI, M NAKAYAMA. 2002. *Journal of Medical Virology* 68:363–369.
- LANZIERI, TM, SC DOLLARD, CD JOSEPHSON, S SCHMID, SR BIALEK. 2013. Breast Milk–Acquired Cytomegalovirus Infection and Disease in VLBW and Premature Infants. *PEDIATRICS* Volume 131, Number 6.
- LUCHETTI, AT, LR PORTO, C MOURA. 2015. Incidência de infecção por citomegalovírus em pacientes portadores de síndrome da imunodeficiência adquirida atendidos em Jundiaí, SP. *J Health Sci Inst.* 2015;33(1):21-5.
- MCDONAGH, S, E MAIDJI, W MA, H CHANG, S FISHER, L PEREIRA. 2004. Viral and Bacterial Pathogens at the Maternal-Fetal Interface. *The Journal of Infectious Diseases* 190:82634.
- MCDONAGH, S, E MAIDJI, H CHANG, L PEREIRA. 2006. Patterns of human cytomegalovirus infection in term placentas: A preliminary analysis. *Journal of Clinical Virology* 35 (2006) 210–215.

MARTÍNEZ, AS, LA MARTÍNEZ, P M TEATINO, JR GRANGER. 2011. Diagnóstico de infecção congênita. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(Supl 5):15-20.

MELLO,RO, PB MARTINY, JB SATURI, F DE PARIS,ABP MACHADO, MB SENGER, MC M CORRÊA, LCW JÚNIOR, G TURRA, CFM SOUZA. 2008. Comparação dos métodos de reação em cadeia da polimerase qualitativo E antigenemia pp65 para o diagnóstico de infecção por citomegalovírus Em pacientes imunossuprimidos. *Rev HCPA* 28(1):16-20.

MARQUES, M, V JOÃO, T TOMÉ. 2013. Transmissão do Citomegalovírus no Leite Materno nos Recém-Nascidos Pré Termos ou Muito Baixo Peso. *Rev Clin Hosp Prof Dr Fernando Fonseca*; 2(1): 15-18.

MATOS, SB, R MEYER, FW LIMA. 2011. Citomegalovírus: uma revisão da patogenia, epidemiologia e Diagnóstico da infecção. *Rev.Saúde.Com* 2011; 7(1): 44-57.

MEDEIROS, RLF, JAR LEMOS, MFL ASSIS, IM JESUS, ECO SANTOS. Detecção do citomegalovírus humano em doadores de sangue através de pcr em tempo real. *CAD. SAÚDE COLET.*, RI O DE JANEIRO, 15 (3): 393 - 400, 2007 – 393.

MIURA, CS, E MIURA, AB MOMBACH, M CHESKY. 2006 The prevalence of congenital cytomegalovirus infection in newborn infants at an intensive care unit in a public hospital. *Jornal de Pediatria - Vol. 82, No.1.*

MINISTÉRIO DA SAUDE. GOVERNO FEDERAL. 2010. Manual técnico da Gestaçao de Alto Risco.5 ed. Disponível em http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf.

MINISTÉRIO DA SAUDE. GOVERNO FEDERAL. 2011. Atenção à Saúde do Recém-Nascido , Guia para os Profissionais de Saúde.

MOURA, JU, GB MORAES, MP CAPIOTTI, R M SILVA, DB LEAL. 2007. Prevalência sorológica de anticorpos anticmv em gestantes da região oeste de Santa Maria, RS. *Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 33-39.*

MOORE, KL, 2012. *Embriologia clinica*. 9 ed. Elsevier p. 109-116.

NUMAZAKI, K. 2005. Human cytomegalovirus infections in premature infants by breastfeeding. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (9), pp.867-872.

- NOZAWA, N, J FANG-HOOVER, T TABATA, E MAIDJI, L PEREIRA. 2009. Cytomegalovirus-specific, high-avidity IgG with neutralizing activity in maternal circulation enriched in the fetal bloodstream. *J Clin Virol.* 2009 December ; 46(Suppl 4): S58–S63.
- OLIVEIRA, GC. 2011. Transmissão do citomegalovirus da mãe ao recém-nascido pelo leite materno: Uma revisão integrativa. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- PASS, RF, B ANDERSON. 2014. Mother-to-Child Transmission of Cytomegalovirus and Prevention of Congenital Infection. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, Vol. 3, Suppl 1, pp. S2–S6.
- PEREIRA, L, M PETITT, A FONG, M TSUGE, T TABATA, J FANG-HOOVER, E MAIDJI, M ZYDEK, Y ZHOU, N INOUE, S LOGHAVI, S PEPKOWITZ, LM KAUVAR, D OGUNYEMI. 2014. Intrauterine Growth Restriction Caused by Underlying Congenital Cytomegalovirus Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2014;209:1573–84.
- PEREIRA, L, MAIDJI, E, MCDONAGH, S, LENORE, TT. 2005. Insights into viral transmission at the uterine–placental interface. *Trends in microbiology*, v. 13, n. 4, p. 164–174.
- PEREIRA, L, M PETTIT, T TABATA. 2013 Cytomegalovirus Infection and Antibody Protection of the Developing Placenta. *Clinical Infectious Diseases* 2013;57(S4):S174–7.
- REEVES, M, A BREIDENSTEIN, T COMPTON. 2011. Human cytomegalovirus activation of ERK and myeloid cell leukemia-1 protein correlates with survival of latently infected cells. *Infectious Diseases–Virology* vol. 109 | no. 2.
- REGAL, JF, JS GILBERT, RM BURWICK. 2015. The Complement System and Adverse Pregnancy Outcomes. *Mol Immunol.* 2015 September ; 67(1): 56–70.
- ROCHA, DAP, JM MARIÑO, CM B SANTOS. 2012. Detecção de Citomegalovírus Humano e Herpesvírus Simples tipo 2 em amostras cervicais. Trabalho realizado no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas – UFAM – Manaus (AM), Brasil.
- RUGER, B, S KLAGES, B WALLA, J ALBRECHT, B FLECKENSTEIN, P TOMLINSON, B BARRELL. 1987. Primary Structure and Transcription of the Genes Coding for the Two Virion Phosphoproteins pp65 and pp71 of Human Cytomegalovirus. *JOURNAL OF VIROLOGY*, p. 446-453.

STARAS, SA, SC DOLLARD, KW, RADFORD, WD FLANDERS , RF PASS, MJ CANNON. 2006. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 43:1143–51.

SADLER, TW , 1995. *Embriologia Médica*. Guanabara Koogan. p. 70.

SANTOS, NSO, 2008. *Introdução à Virologia Humana*. Guanabara Koogan. p. 228-235.

SATOZAR, A, NC RAMIREZ, D BARTHOLOMEW, J DAVIS, GJ NUOVO. 2004. Histologic Correlates of Viral and Bacterial Infection of the Placenta Associated With Severe Morbidity and Mortality in the Newborn. *Human pathology* Volume 35, No. 5

SIBLEY, CP, TJ BIRDSEY, P BROWNBILL, LH CLANON, DOUGHTY, JD GLAZIER, SL GREENWOOD, J HUGHES, T JANSSONT, P MYLONA, DM NELSON, T POWELLT. 1995. Mechanisms of maternofetal exchange across the human placenta. *Nature (London)* 1, 1311-1314.

SYRIDOU, G, N SPANAKIS, A KONSTANTINIDOU, ET PIPERAKI, D KAFETZIS, E PATSOURIS, A ANTSAKLIS, A TSAKRIS. 2008. Detection of Cytomegalovirus, Parvovirus B19 and Herpes Simplex Viruses in Cases of Intrauterine Fetal Death: Association With Pathological Findings. *Journal of Medical Virology* 80:1776–1782.

STENBERG, RM, DR THOMSEN, MF STINSKI. 1984. Structural Analysis of the Major Immediate Early Gene of Human Cytomegalovirus. *Journal of virology*, Jan. 1984, p. 190-199 Vol. 49, No. 1.

SCHLEISS, MR, 2011. Congenital Cytomegalovirus Infection: Molecular Mechanisms Mediating Viral Pathogenesis. *Infect Disord Drug Targets*; 11(5): 449–465.

SÁNCHEZ , HMG, AS SILVA-RAMÍREZ, CCM CAMPO. 2016. Modulación de la apoptosis por citomegalovirus en la perspectiva del sistema nervioso central. *Rev Chilena Infectol*; 33 (1): 44-54.

SWANSON, EC, MR SCHLEISS. 2013. Congenital Cytomegalovirus Infection: New Prospects for Prevention and Therapy: for Pediatric Clinics of North America: Advances in Evaluation, Diagnosis and Treatment of Pediatric Infectious Disease. *Pediatr Clin North Am*. 2013 April ; 60(2).

TABATA, T, AM PETITT, M ZYDEK, J FANG-HOOVER, N LAROCQUE, M TSUGE, M GORMLEY, LM KAUVAR, L PEREIRA. 2015. Human Cytomegalovirus Infection

Interferes with the Maintenance and Differentiation of Trophoblast Progenitor Cells of the Human Placenta. *Journal of Virology* May 2015 Volume 89 Number 9.

TAVARES, MV, AP DOMINGUES, M TAVARES, E MALHEIRO, F TAVARES , P MOURA. 2011. Citomegalovírus Existe Lugar para o Rastreo Durante a Gravidez? *Acta Med Port*; 24(S4).

TERRA, APS, ML VERGARA, RAS GOMES, CL PEREIRA, AJG SIMPSON, OL CABALLERO. 2000. desenvolvimento de doença por citomegalovirus (CMV) usando-se PCR multiplex. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33(6):583-589, novembro, 2000.

YOO, HS, SI SUNG, YJ JUNG, MS LEE, YM HAN, SY AHN, YS CHANG, WS PARK. 2015. Prevention of Cytomegalovirus Transmission via Breast Milk in Extremely Low Birth Weight Infants. *Yonsei Med J* 56(4):998-1006.

YEDIDIA, YE, MB MEIR, M HILLEL, G ABITBOL, E BROIDE, R FALK, M ASSOUS, Y SCHLESINGER. 2016. Low Interferon Relative-Response to Cytomegalovirus Is Associated with Low Likelihood of Intrauterine Transmission of the Virus. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0147883.

WANG, C, SC DOLLARD, MM AMIN, SR BIALEK. 2016. Cytomegalovirus IgM Seroprevalence among Women of Reproductive Age in the United States. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0151996.

WALDORF, KMA, RM MCADAMS. 2013. Influence of infection during pregnancy on fetal development. *Reproduction* (2013) 146 151–162.

WU, CA, SA PAVEGLIO, EG LINGENHELD, L ZHU, L LEFRANCOIS, L PUDDINGTON. 2011. Transmission of Murine Cytomegalovirus in Breast Milk: a Model of Natural Infection in Neonates. *JOURNAL OF VIROLOGY*, May 2011, p. 5115–5124.

XAVIER, PCN. 2012 Infecção por citomegalovirus em pacientes Internados em unidades neonatais de campo grande – Ms, Brasil. Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro- Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

ZHANG, S, TR REGNAULT, PL BARKER, KJ BOTTING, IC MCMILLEN, CM MCMILLAN, CT ROBERTS, JL MORRISON. 2015. Placental Adaptations in Growth Restriction. *Nutrients* 2015, 7, 360-389; doi:10.3390/nu7010360.

KIM, CS. 2010. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection. *Korean J Pediatr.* 2010 Jan;53(1):14-20. English.

ANEXOS

QUESTIONÁRIO

<p style="text-align: center;"><i>Prevalência de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) na placenta e colostro de gestantes atendidas no Hospital Universitário (HU-FURG) do Rio Grande – RS, incidência de IST no cordão umbilical dos neonatos dessas gestantes e os fatores de risco associados.</i></p> <p><i>Categoria da paciente: (1) Gestante (2) Gestante/HIV+</i></p>	<p style="text-align: center;">Número do questionário</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p>catp __</p>
---	--

“AS PERGUNTAS DESTE QUESTIONÁRIO SÃO SIGILOSAS, NÃO EXISTE A POSSIBILIDADE DE VOCÊ SER IDENTIFICADO. PORTANTO CONTAMOS COM A SUA SINCERIDADE.”

<p>“VAMOS FALAR SOBRE SEUS DADOS PESSOAIS”</p> <p>1. Qual a cor da sua pele: (1) Branca (2) Parda/Morena (3) Preta</p> <p>2. Quantos anos você tem? ___ anos (<i>completo</i>)</p> <p>3. Você é: (1) Solteira (2) Casada ou tem companheiro (3) viúva (4) Separada</p> <p>4. Até que série você estudou? ___^a do ___^o grau (<i>já completou</i>)</p> <p>5. Você fuma? (1) Sim. Quantos cigarros por dia? _____ (2) Não (3) Parou de fumar</p> <p>6. No mês passado quanto ganharam as pessoas da sua casa que trabalharam?</p> <p style="padding-left: 20px;">Pessoa 1: R\$ _____, ____</p> <p style="padding-left: 20px;">Pessoa 2: R\$ _____, ____</p> <p style="padding-left: 20px;">Pessoa 3: R\$ _____, ____</p> <p>“AGORA VAMOS FALAR SOBRE SEXO, GRAVIDEZ E DOENÇAS DO SEXO”</p> <p>7. Que idade você tinha quando manteve relação sexual pela primeira vez? ___ anos</p> <p>8. Com quantas pessoas você fez sexo na sua vida? ____</p> <p>9. Com quantas pessoas você fez sexo nos últimos 6 meses? ____</p> <p>10. Quantas vezes você ficou grávida (partos mais abortos)? ____</p> <p>11. Quantos partos você teve (parto normal mais cesárea)? ____</p> <p>12. O que a você faz para não engravidar? (1) pílula anticoncepcional (2) camisinha (3) DIU (4) ligadura das trompas (5) Outro método. Qual? _____</p> <p>13. Você usa camisinha durante as relações sexuais?</p> <p style="padding-left: 20px;">(1) sim (2) não. Por que não usa? _____</p> <p>14. Você já teve alguma doença sexualmente transmissível?</p> <p style="padding-left: 20px;">(1) sim. Qual? _____ (2) não (9) Não lembro</p> <p>15. Você já ouviu falar de Herpes genital? (1) sim (2) não (9) Não lembro</p>	<p style="text-align: center;">NÃO ESCREVER AQUI</p> <p>cor ____</p> <p>idad ____</p> <p>estaciv ____</p> <p>serim ____</p> <p>graum ____</p> <p>fum ____</p> <p>qfum ____</p> <p>rend1 ____</p> <p>rend2 ____</p> <p>rend3 ____</p> <p>idsex ____</p> <p>sexv ____</p> <p>sexm ____</p> <p>gest ____</p> <p>para ____</p> <p>faz ____</p> <p>qoutro ____</p> <p>usa ____</p> <p>porn ____</p> <p>dst ____</p> <p>qdst ____</p> <p>herp ____</p>
--	---

16. Se você conhece o Herpes. Como se pega? _____	pherp __
17. Se você conhece o Herpes. O que ele causa? _____	cherp __
18. Você já ouviu falar do Papiloma Virus Humano (HPV) ?(1) sim(2) não(9) Não lembro	phpv __
19. Se você conhece a HPV. Como se pega? _____	chpv
20. Se você conhece o HPV. O que ele causa? _____	
“AGORA VAMOS FALAR SOBRE O CÂNCER DO COLO DO UTERO”	
21. Você já ouviu falar no exame de pré-câncer (preventivo) do colo do útero? (1) Sim (2) Não (9) Não lembro	falacp __
22. Você já fez este exame alguma vez? (1) Sim (2) Não (9) Não lembro	
23. Marcar o que você acha importante para a mulher ter o câncer do colo uterino: (pode ser mais de uma) (1) mãe ter tido câncer (2) irmã ter tido câncer (3) corrimento (4) usar DIU (5) Papiloma Virus Humano (HPV) (6) ter ferida no colo do útero (7) Ser fumante (8) Ter muitos filhos () Outro fator? _____	fezcp __ causa1 __ causa2 __ causa 3 __ causa4 __ causa 5 __ causa6 __
“AGORA VAMOS FALAR SOBRE CORRIMENTO NA GRAVIDEZ”	
24. A Senhora tem ou teve corrimento vaginal nesta gravidez? (1) Sim, tratado (2) Sim, não tratado (3) Não (9) Não lembro	gecorr __
25. SE SIM Quantas vezes a senhora teve corrimento durante toda a gravidez? ___ vezes (77=durante toda a gravidez; 88=não se aplica; 99=IGN)	gvez __
26. Que cor era a maioria destes corrimentos? Branco-amarelado: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro Amarelado: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro Esverdeado: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro Outra cor: _____	gcor1 __ gcor2 __ gcor3 __ gcor4 __
27. Este corrimento tinha cheiro ruim? (1) Sim, sempre (2) Sim, as vezes (3) Não (9) Não lembro	gcheiro __
28. Quando a senhora estava com corrimento, o que mais a senhora tinha? Coceira: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro Ardência para urinar: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro Dor durante relações sexuais: (1) Sim (2) Não (9) Não lembro	gcoc __ gard __ gdor __
29. Alguma vez a senhora fez tratamento para este corrimento? (1) Sim: Qual? (2) Não (9) Não lembro (1) creme vaginal. Qual e por quanto tempo? _____ (2) comprimido. Qual e por quanto tempo? _____	gtrat __ gcreme __ qqcr __

MUITO OBRIGADO PELA SUA PACIÊNCIA!	
“PARA USO DO PESQUISADOR”	
30. STATUS HIV (___ / ___ / ___): CD4 _____ Carga viral _____ Terapia anti-retroviral (1) Não (2) Sim	gtcr __ __ gcomp __ gqcomp __ gtcomp __ __ cd4 _____ cv _____ teranti _____
31. STATUS HCV: RNA (PCR): (1) negativo (2) positivo Tipo do HCV: _____	RNAHCV __ tipo __
32. STATUS HBV: DNA (PCR): (1) negativo (2) positivo Tipo do HBV: _____	DNAHBV __ tipo __
33. STATUS HERPES: DNA (PCR): (1) negativo (2) positivo Tipo do HERPES: _____	DNAHSV __ tipo __
34. STATUS HPV: DNA-HPV (PCR): (1) negativo (2) positivo Genótipo HPV: _____ Genótipo HPV: _____ Genótipo HPV: _____ Genótipo HPV: _____	DNAHPV __ geno1 __ geno 2 __ geno 3 __ geno 4 __
35. Resultado do CITOPATOLÓGICO: (1) Normal (2) Inflamatório (3) lesão de baixo grau (HPV e NIC I) (4) lesão de alto grau (NIC II e III e carcinoma “in situ”) (5) Carcinoma invasor	cp __
36. Tipo de parto: 1) vaginal (2) vaginal + forceps (3) cesariana	tipart __
37. Tempo de ruptura da membrana amniótica (min) 1) ≤ 360 (2) 361 ≤ a ≤ 720 (3) ≥ 721	temrupt __
38. Peso Recém-nascido: _____	pesoRN __

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO I

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO RIO GRANDE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS (IST) NA PLACENTA E COLOSTRO DE GESTANTES E INCIDÊNCIA DE IST NO CORDÃO UMBILICAL DE NEONATOS ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO (HU-FURG), RIO GRANDE – RS

Investigador principal: Ana Maria Barral de Matinez/ tel: 32338857

Médico responsável: Carla Vitola Gonçalves/ <tel:32338842>

EXPLICAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA AOS PACIENTES :

Propósito de estudo

O propósito desta pesquisa é estudar os agentes infecciosos que se transmitem sexualmente e que podem ser isolados a partir da biópsia da placenta, sangue periférico (venoso) das parturientes e sangue do cordão umbilical de seus recém-nascidos no Hospital Universitário da cidade de Rio Grande.

Procedimentos

Nós solicitamos que você responda ao questionário anexo a este termo de consentimento para que possamos conhecer algumas informações a seu respeito. Suas respostas são importantes para a realização da pesquisa.

Além disso, nós solicitaremos que sejam recolhidas amostras do sangue do cordão umbilical e biópsia da placenta para esta pesquisa, que serão coletadas logo após o parto e amostra de sangue sua (restante) de coleta já colhida pelo laboratório do HU. Reiteramos que não será necessária nova coleta de sangue.

Estas amostras serão usadas para diagnóstico microbiológico e molecular da infecção, através da detecção do DNA por técnicas de biologia molecular e método sorológico, para determinar se você é portador de HSV – Herpes e que tipo de HSV você esteja portando, caso esteja infectada.

As amostras serão enviadas para o Laboratório de Biologia Molecular, no Hospital Universitário da FURG e será utilizada apenas para esta pesquisa. A

amostra retirada não será enviada para outros laboratórios e não será usada para propósitos comerciais.

A coleta da amostra não vai afetar a sua saúde nem a do seu recém-nascido.

1.1. Benefícios:

O benefício da pesquisa será diagnosticar através de técnicas moleculares e sorológicas a presença do Herpesvirus e a associação com a prevalência molecular, a carga viral e a transmissão vertical (mãe-filho) desse vírus em parturientes e seus neonatos atendidos no Centro Obstétrico do Hospital Universitário- FURG

A prevalência desse modo não-sexual de transmissão viral pode ter um impacto importante sobre as estratégias de vacinação, prevenção da infecção e manejo clínico de mulheres infectadas antes da gravidez.

1.2. Alternativas para a participação

Sua participação nesse estudo é voluntária. Caso você não queira participar, continuará a receber o melhor tratamento nesse serviço. Você é livre para retirar o seu consentimento a qualquer hora.

Caso você se recuse a participar isso não afetará seu tratamento atual ou futuro, de qualquer forma.

1.3. Custos e compensações

Você não pagará nada para participar desse estudo. Você não será pago por estar no estudo.

1.4. Confidenciabilidade

Este estudo envolve informações confidenciais. Essas informações serão mantidas estritamente confidenciais. O seu nome não será dado para ninguém além dos profissionais do Laboratório de Biologia Molecular, localizado na Faculdade de Medicina da FURG. Qualquer publicação científica dos resultados não identificará você.

1.5. Risco Global do Estudo

As duas biópsias que serão realizadas no disco da placenta (uma na porção materna e a outra na porção fetal) ocorrerão após o parto, assim como a coleta da amostra de sangue do cordão umbilical, que será realizada na porção inserida na placenta, **não** oferecendo risco ao recém-nascido.

O soro das pacientes será proveniente do sangue coletado pelo laboratório do HU, durante o pré-natal das mesmas. Portanto não há a necessidade de nova coleta e os pesquisadores **não** terão este contato com as pacientes.

As informações contidas nos questionários e prontuários assim como os resultados obtidos com a pesquisa serão sigilosas e somente disponíveis aos pesquisadores envolvidos no estudo, de forma a proteger a identidade dos sujeitos da pesquisa.

Com relação aos pesquisadores, os riscos existentes dizem respeito à manipulação de amostras clínicas e todas as implicações referentes às mesmas. A equipe de pesquisadores será treinada com objetivo de minimizar esses riscos, sendo que estes procedimentos são realizados rotineiramente no Laboratório de biologia molecular.

1.6. Perguntas ou problemas

Se você tem alguma pergunta ou problema quanto a esse estudo, pode entrar em contato com a pesquisadora Emiliania Claro Avila, fone 53 99439067

Consentimento

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Prevalência de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) na placenta e colostro de gestantes atendidas no Hospital Universitário (HU-FURG) do Rio Grande – RS, incidência de IST no cordão umbilical dos neonatos dessas gestantes e fatores de risco associados". Eu discuti com o Dr. Ana Maria Barral de Martinez sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar

deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data / /

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO II

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO RIO GRANDE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS (IST) NA PLACENTA E COLOSTRO DE GESTANTES E INCIDÊNCIA DE IST NO CORDÃO UMBILICAL DE NEONATOS ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO (HU-FURG), RIO GRANDE – RS

Investigador principal: Ana Maria Barral de Matinez/ tel: 32338857

Médico responsável: Carla Vitola Gonçalves/ <tel:32338842>

Casos especiais de consentimento:

Paciente menor de 18 anos – com a assistência de um dos pais ou responsável;

Paciente e/ou responsável analfabeto – o presente documento deverá ser lido em voz alta para o paciente e seu responsável na presença de duas testemunhas, que firmarão também o documento;

Eu, _____, RG nº _____,
responsável legal por _____, RG nº _____,
declaro ter sido informado e concordo com a sua
participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito.

Assinatura