



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Atualizações sobre a infeção de citomegalovírus na gravidez: uma revisão da narrativa

Ana Filipa Agostinho David

Orientado por:

Prof^a Dr^a Susana Santo

Co-Orientado por:

Dr^o Rui de Carvalho

Junho'2021

Resumo

A infecção por citomegalovírus (CMV) é a principal causa de surdez neurossensorial congénita, afetando 22% dos recém-nascidos infetados. A infecção congénita por citomegalovírus (cCMV) tem uma prevalência mundial de 0.64%, apresentando maior risco de se desenvolver após infecção materna primária (32.3%) comparativamente à infecção materna recorrente (1.4%). Assim, torna-se importante determinar a data da infecção materna.

Esta revisão da narrativa revelou que idade materna jovem (<20 anos), baixo nível socio-económico e a população melanodérmica não-hispânica constituem fatores de risco para infecção cCMV. A presença de achados ecográficos cerebrais graves, virémia fetal elevada ($\geq 4.93 \log_{10}$ UI/mL) e trombocitopénia fetal ($\leq 114\ 000/\text{mm}^3$) constituem fatores de mau prognóstico fetal. É recomendada a realização de ressonância magnética (RM) fetal, pelo maior valor preditivo negativo (VPN) para surdez neurossensorial e défices neurológicos comparativamente à ecografia. A recomendação de medidas de higiene é a intervenção mais eficaz para prevenção da infecção materna primária por CMV. As vacinas gB/MF59, com 50% de eficácia, e V160, com estimulação de anticorpos neutralizantes, apresentam resultados promissores. Estabelecida a seroconversão materna, a terapêutica com 200 UI/kg de hiperimunoglobulina (HIG) bissemanal ou com 8 g diárias de valaciclovir oral diminui a taxa de transmissão vertical e melhora o prognóstico fetal. A administração de valganciclovir oral (16 mg/kg, 2 vezes/dia) ao recém-nascido revelou melhoria da audição em crianças com cCMV.

O único estudo epidemiológico da infecção por CMV e cCMV em Portugal revelou uma taxa de prevalência cumulativa à nascença de $6.6/10^5$ nascimentos, bastante inferior à taxa mundial, sugerindo um sub-diagnóstico da infecção. Destaca-se a importância de realizar um estudo epidemiológico otimizado em Portugal para determinação da custo-efetividade do programa e reavaliar a implementação do rastreio serológico universal a CMV no primeiro trimestre da gestação.

Palavras-chave: citomegalovírus, infecção congénita por citomegalovírus, gravidez, rastreio, diagnóstico pré-natal.

Abstract

The cytomegalovirus (CMV) infection is the leading cause of nongenetic sensorineural hearing loss (SNHL), affecting up to 22% of the infected new-borns. The cytomegalovirus congenital infection (cCMV) has a 0.64% worldwide prevalence, being more likely to occur through primary maternal infection (32.3%) in comparison to a recurrent infection (1.4%). Therefore, it becomes important to establish the timing of the maternal infection.

This review revealed that a young maternal age (<20 years old), a low socioeconomic status and being a non-hispanic melanodermic are risk factors for cCMV infection. The presence of severe cerebral ultrasound abnormalities, high-level fetal viraemia ($\geq 4.93 \log_{10}$ IU/mL) and thrombocytopenia ($\leq 114\ 000/\text{mm}^3$) are predictive factors for poor fetal prognosis. It's recommended performing a fetal MRI given the higher NPV for SNHL and neurologic impairments in comparison to fetal ultrasound scan. The recommendation of hygiene measures is the most effective intervention for preventing primary maternal infection by CMV. The gB/MF59 vaccine, with 50% efficacy, and the V160 vaccine, with stimulation of neutralizing antibodies, reveal promising findings. Once maternal seroconversion is established, treatment with 200 IU/kg of hyperimmunoglobulin (HIG) biweekly or 8 g daily of oral valaciclovir reduces the vertical transmission rate and improves the fetal symptomatic prognosis. The administration of oral valganciclovir (16 mg/kg, twice daily) to the new-born shown an improvement of hearing in children with cCMV.

The only epidemiological study of the infection by CMV and cCMV in Portugal revealed a cumulative prevalence rate at birth of 6.6/105 births, fairly lower to the worldwide rate, suggesting an underdiagnosis of the infection. It's important to perform an optimized epidemiological study in Portugal to determine the program cost-effectiveness and reevaluate the establishment of an universal serologic screening of CMV in the first trimester of pregnancy.

Keywords: cytomegalovirus, congenital (cytomegalovirus) infection, pregnancy, screening e prenatal diagnosis.

O Trabalho Final é da exclusiva responsabilidade do seu autor, não cabendo qualquer responsabilidade à FMUL pelos conteúdos nele apresentados.

Este trabalho foi escrito com o Novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa.

Índice

| | |
|---|----|
| Resumo | 1 |
| Abstract..... | 2 |
| Índice..... | 4 |
| Lista de Abreviaturas | 5 |
| Introdução..... | 6 |
| Métodos..... | 6 |
| Diagnóstico da infecção materna e fatores de risco para infecção cCMV..... | 7 |
| Infeção fetal e prognóstico pré-natal | 9 |
| Diagnóstico da infecção congênita no recém-nascido e prognóstico pós-natal..... | 14 |
| Prevenção da infecção materna e da transmissão materno-fetal e tratamento..... | 18 |
| Medidas de Higiene..... | 18 |
| Vacina | 19 |
| Hiperimunoglobulina..... | 21 |
| Antivirais..... | 22 |
| Discussão..... | 24 |
| Conclusão..... | 28 |
| Agradecimentos | 30 |
| Referências..... | 31 |

Lista de Abreviaturas

AD - domínio antigénico

ADN - ácido desoxirribonucleico

ALT - alanina aminotransferase

AST - aspartato aminotransferase

CMV – citomegalovírus

(infecção) cCMV – infecção congénita a citomegalovírus

dB – decibel

DP – desvio padrão

ELISA – teste de imunoabsorção enzimático

ELISPOT - teste de imunoabsorção enzimático

gB - glicoproteína B

hCG - gonadotrofina coriónica humana

HIG - hiperimunoglobulina

IC - intervalo de confiança

IgG ou IgM - imunoglobulina G ou M

IIQ – intervalo interquartil

LA - líquido amniótico

OR – *odds ratio*

P - *p-value*

PCR - reação em cadeia da polimerase

PPAR γ - recetor γ ativado pelo proliferador de peroxissoma

r - correlação

RM – ressonância magnética

RR - risco relativo

rt-PCR - reação em cadeia da polimerase em tempo real

UI - unidades internacionais

VPN – valor preditivo negativo

VPP – valor preditivo positivo

Introdução

A infecção por citomegalovírus (CMV), um herpesvírus de dupla cadeia de ADN, é a principal causa de surdez neurossensorial congénita, afetando 22% dos recém-nascidos infetados.¹ A infecção congénita por citomegalovírus (cCMV) tem uma prevalência de 0.64% a nível mundial e embora se observe uma variação entre os diferentes países, não existe uma correlação evidente entre a taxa de prevalência e o desenvolvimento socio-económico do país. A taxa de transmissão vertical após infecção materna corresponde a cerca de 20.7%, resultando em 11% de recém-nascidos com infecção cCMV sintomáticos à nascença, os quais poderão desenvolver sequelas graves a longo prazo. A infecção materna primária apresenta um risco maior (32.3%) de desenvolver infecção cCMV, comparativamente à infecção materna recorrente (1.4%).²

A infecção cCMV é uma doença prevalente e clinicamente importante, que poderá resultar em consequências graves a longo prazo e com grande impacto na vida da criança, acarretando um elevado impacto económico no sistema de saúde. Dada a ausência de uma vacina eficaz, a dificuldade em estabelecer um prognóstico seguro no período pré-natal e a escassez de tratamentos eficazes ainda não existe consenso em realizar um rastreio universal para a infecção materna por CMV ou para a infecção cCMV.

Nesta revisão da narrativa pretende-se reunir e sumarizar a evidência científica relativamente à infecção materna e fetal por CMV, aos respetivos testes de rastreio e de diagnóstico, às opções terapêuticas e ao prognóstico da cCMV. Ulteriormente procurar-se-á perceber se neste momento se justifica realizar um rastreio serológico universal do CMV no primeiro trimestre da gravidez.

Métodos

Efetou-se uma revisão da narrativa através da pesquisa de estudos em duas *databases* (PubMed e ClinicalTrial.gov) e da identificação de estudos relevantes citados nos artigos encontrados, dos últimos 5 anos. Foram pesquisados os seguintes termos em inglês: “cytomegalovirus”, “congenital (cytomegalovirus) infection”, “pregnancy”, “screening” e “prenatal diagnosis”. Incluíram-se estudos de coorte, ensaios clínicos e de caso controlo aleatorizados e não-aleatorizados; artigos com o texto completo disponível; em inglês.

Diagnóstico da infecção materna e fatores de risco para infecção cCMV

O CMV transmite-se ao ser humano, o seu único reservatório, através de fluidos corporais, como saliva, urina, secreções endocervicais, leite materno ou produtos sanguíneos, que entram em contacto com as mucosas ou a via hematogénica. Dissemina-se no organismo por via hematogénica, tendo um período de incubação de 3 a 6 semanas. As principais causas apontadas para a infecção por CMV na mulher grávida são a transmissão sexual e o contacto com crianças pequenas.³

A infecção materna subdivide-se em infecção primária, quando a primo-infecção se instala durante a gestação, ou não-primária ou recorrente, quando existe uma reinfeção por uma nova variante ou a reativação do vírus em fase de latência durante a gestação. Atualmente é reconhecido um maior risco de infecção cCMV fetal associado à infecção materna primária (32.3%), comparativamente à infecção materna recorrente (1.4%), tornando-se importante determinar a instalação temporal da infecção materna.² A infecção por CMV na grávida apresenta-se na maioria dos casos como assintomática ou com sintomas inespecíficos (febre, astenia, mialgias, adenomegalias, linfocitose ou aumento das transaminases), passando muitas vezes despercebida. Atualmente, são realizados testes diagnósticos quando existe uma elevada suspeita clínica de infecção materna ou quando são encontrados achados ecográficos fetais sugestivos de infecção por CMV.

O diagnóstico de infecção materna é estabelecido através da pesquisa serológica das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) específicas para o CMV, no sangue materno, e define-se pela seroconversão registada da IgG, negativa previamente à gestação, ou quando a IgG e a IgM testam positivo. No último caso está preconizada a pesquisa da avidéz da IgG para distinguir uma infecção recente de uma antiga, uma vez que os níveis de IgM podem persistir elevados durante vários meses após a instalação da infecção primária. A pesquisa da avidéz da IgG avalia a força da ligação entre o antígeno de CMV e as moléculas de IgG. O soro do doente é adicionado a uma preparação de antígenos de CMV e, após tratamento com agentes desnaturantes (ureia, por exemplo), é analisada a proporção de anticorpos dissociados dos antígenos, através de um teste imunoenzimático (ELISA, por exemplo). Após uma infecção materna primária, os anticorpos sofrem maturação ao longo do tempo, refletindo o aumento da afinidade entre a IgG e o antígeno.⁴ Após uma infecção materna primária recente (há menos de 3

meses) existe uma avidéz da IgG baixa, ou seja, uma fraca ligação dos anticorpos aos antígenos. Uma avidéz da IgG alta determina uma infeção antiga, decorrida há mais de 3 meses.^{5,6} Desta forma, confirma-se o diagnóstico de infeção materna primária quando ocorre seroconversão da IgG durante a gestação ou na presença de IgG e IgM positivas com uma avidéz da IgG baixa. A pesquisa serológica no primeiro trimestre com IgG e IgM positivas e avidéz da IgG alta determina uma infeção antiga, a favor de uma infeção materna prévia à conceção. Atualmente existem diversos testes disponíveis para determinação da avidéz da IgG, com diferentes métodos de análise (testes ELISA, testes *immunoblot* e testes automatizados baseados na fluorescência ou quimioluminescência). No entanto, alguns estudos revelaram que existe uma variabilidade significativa entre os diferentes testes comercializados, recomendando a uniformização dos mesmos, de forma a evitar discrepâncias no aconselhamento a prestar à grávida consoante os resultados do teste da avidéz da IgG.^{4,7,8}

No caso de uma avidéz da IgG do CMV intermédia o resultado é inconclusivo, não sendo possível excluir com segurança uma infeção recente, ou seja, nos últimos 3 meses. No seguimento de um teste de avidéz da IgG inconclusivo, para confirmar com maior precisão o tempo de instalação da infeção materna, Delforge et al. propuseram a combinação dos testes recomLine CMV IgG Mikrogen e recomLine CMV IgG Avidity, como testes específicos adicionais aos testes convencionais de pesquisa da avidéz, já que neste estudo permitiram a datação correta da infeção em 79% (70/89) dos casos inconclusivos da avidéz.⁶

Torna-se importante definir a infeção materna como primária ou recorrente e datar a instalação da mesma, uma vez que estudos comprovaram que a seroconversão da IgG do CMV e uma avidéz baixa da IgG ou a quantificação de níveis elevados de IgM durante o primeiro trimestre ($> 7.2-10.0$ *index*) associam-se a um risco maior de infeção cCMV.^{9,10} Observou-se que uma avidéz da IgG elevada, adquirida após uma infeção prévia, tem capacidade neutralizante suprimindo a replicação de CMV na placenta e, conseqüentemente, diminuindo a inflamação e as alterações placentárias.¹¹ A imunidade mediada por células específica ao CMV é possível de ser determinada em mulheres grávidas através de testes de deteção de interferão-gama (IFN- γ) (IGRA), nomeadamente o teste de imunoabsorção enzimático (ELISPOT) para o CMV. Saldan et al., num estudo com 80 grávidas, demonstraram que o teste ELISPOT para o CMV é capaz

de discriminar uma infecção primária de uma não primária.¹² Forner et al. confirmaram ainda que os resultados do teste ELISPOT estão fortemente associados a um aumento do risco de infecção congênita ($P < 0.001$), com um *cutoff* no valor de 185 spots/2x10⁵ de células mononucleares no sangue materno determinado para a maior sensibilidade e especificidade do teste (AUC: 0.8).¹³ Assim, a presença de anticorpos maternos revelou ser um fator protetor para o desenvolvimento de infecção cCMV do recém-nascido numa gravidez futura (RR 0.3, IC 95%: 0.2-0.6).¹⁴

Recentemente, Leruez-Ville et al. analisaram 739 mulheres seronegativas na primeira gravidez que tiveram pelo menos uma das 971 gravidezes subsequentes seguidas na mesma instituição. Demonstraram que nas mulheres grávidas com gestações prévias com *status* seronegativo para CMV os fetos da atual gestação apresentam uma probabilidade 24 vezes maior de adquirir infecção cCMV que a população geral (RR 24, IC 95%: 10.8-62.3) e um risco 6 vezes maior de sequelas associadas à infecção cCMV (RR 6, IC 95%: 1.5-24). Sugerem, assim, que existe um maior risco de infecção primária em mulheres grávidas com filhos pequenos, isto é, com menos de 36 meses de idade. Observou-se também que a probabilidade de infecção materna é maior quando o período de tempo entre as duas gestações é de 1 a 2 anos, o que poderá refletir a janela temporal em que ocorre mais frequentemente a infecção dos filhos da gestante.¹⁵

Vários estudos revelaram outros fatores de risco para infecção cCMV, nomeadamente: idade materna jovem (<20 anos), baixo nível socio-económico da gestante e população melanodérmica não hispânica. Diferentes estudos também apoiaram existir um risco quase 2 vezes maior de infecção cCMV na população melanodérmica: OR ajustado 1.9 (IC 95%: 1.4-2.5), por Fowler et al.³, e OR 1.7 (IC 95%: 1.4-2.1), por Inagaki et al.¹⁶. Pelo contrário, a população leucodérmica hispânica apresenta uma menor prevalência de infecção cCMV, apesar da menor significância estatística. Uma idade materna igual ou superior a 25 anos confere proteção contra o desenvolvimento de infecção cCMV (RR ajustado: 0.2, IC 95%: 0.1-0.5).^{2,14,16-18}

Infeção fetal e prognóstico pré-natal

A infecção fetal decorre através da transmissão vertical transplacentar após infecção materna por CMV, com uma taxa de transmissão superior numa infecção

primária (32.3%) relativamente a uma infeção não-primária (reinfeção ou reativação) (1.4%). Nas infeções maternas com IgM positivas, mas com avidéz da IgG intermédia, que podem corresponder a infeções primárias ou recorrentes, observou-se uma taxa de transmissão vertical de 20.7%, que se assumiu como média da taxa de transmissão.² Efetivamente, no estudo realizado por Feldman et al., com uma amostra de 524 fetos resultantes de 508 gravidezes referenciadas à instituição israelita, registou-se uma taxa de transmissão vertical média semelhante (23.2%). De destacar que existe um maior risco de transmissão fetal quando a infeção materna primária decorre durante a gestação (39,9%), um risco reduzido no período periconcepcional (4.6%; entre 8 semanas antes e 6 semanas depois da conceção) e nulo quando ocorre no período ante-natal (0%; entre 12 meses a 8 semanas antes da conceção).¹⁹ Numa primoinfeção materna, a taxa de transmissão vertical aumenta ao longo da gestação (34.8%, 42.0% e 58.6% no primeiro, segundo e terceiro trimestres, respetivamente, $p=0.049$), no entanto o risco de desenvolver sequelas fetais graves diminui.¹⁹ Faure-Bardon et al., numa amostra de 260 grávidas com primoinfeção a CMV, descreveu uma redução de infeção cCMV fetal ao longo da gestação (58%, 28% e 14% no primeiro, segundo e terceiro trimestre, respetivamente). Verificou-se ainda que apenas recém-nascidos infetados no seguimento de infeção materna no primeiro trimestre apresentavam surdez neurosensorial ou sequelas neurológicas, num protocolo de vigilância até aos 24 meses de vida, com um risco de 32.4% (IC 95%: 23.7-42.1) de desenvolver estas sequelas pós-natais.²⁰

Em primeiro lugar o CMV infeta a placenta, a qual tem um papel de destaque para uma gestação saudável, sendo necessária para as trocas de gases, nutrientes, imunoglobulinas e hormonas necessários para o desenvolvimento fetal. A infeção viral da placenta provoca alterações nos mecanismos de diferenciação do trofoblasto quer em estadios iniciais quer terminais. Inicialmente, a replicação do CMV nas células progenitoras trofoblásticas desregula a sua capacidade de renovação e diferenciação, interferindo no correto desenvolvimento placentário. A infeção viral provoca um aumento da expressão do recetor γ ativado pelo proliferador de peroxissoma (PPAR γ) e uma diminuição da produção da gonadotrofina coriónica humana (hCG), levando a defeitos na formação do citotrofoblasto e sinciotrofoblasto, respetivamente. O aumento do PPAR γ compromete a capacidade de invasão do citotrofoblasto e de

regulação das reservas de ácidos gordos e do metabolismo da glicose, importantes para o adequado crescimento e desenvolvimento fetal. A diminuição da hCG, produzida pelo sinciotrofoblasto, diminui a produção de progesterona e a fusão e formação do sinciotrofoblasto. Adicionalmente, a contínua replicação de CMV nas células citotrofoblásticas reduz a expressão de marcadores de diferenciação e reduz a expressão e atividade de proteases da matriz essenciais para a invasão da vasculatura uterina. A alteração destes mecanismos placentários, com consequentes implicações no fornecimento sanguíneo fetal, poderá explicar a redução do crescimento fetal e o parto pré-termos verificados em fetos não infetados após infeção materna por CMV.²¹

A infeção fetal ocorre através da disseminação hematogénica do vírus e replicação viral nos tecidos fetais, com consequente excreção de CMV na urina fetal. Deste modo, a deteção de ADN de CMV no líquido amniótico por reação em cadeia da polimerase (PCR) ou PCR em tempo real (rt-PCR) é o método de diagnóstico de preferência da infeção fetal, devendo ser realizado após as 20 semanas de gestação e 6 semanas depois de estabelecida a infeção materna, devendo ser posteriormente confirmada através da deteção de ADN viral por PCR na urina do recém-nascido no período pós-natal.²² A realização da amniocentese para diagnóstico da infeção fetal é oferecida quando existe uma alta suspeita clínica de infeção materna ou na presença de achados ecográficos fetais característicos da infeção por CMV.

O feto infetado por CMV poderá apresentar-se desde aparentemente normal, sem sinais de infeção, até gravemente afetado, com alterações físicas demonstradas através de exames analíticos e/ou de imagem. Nas ecografias pré-natais de rotina poderão ser encontradas diversas alterações fetais características da infeção por CMV, classificadas por Leruez-Ville et al. em alterações ecográficas cerebrais graves ou ligeiras e extracerebrais, através da análise de 82 fetos com infeção por CMV.²³ Os achados ecográficos anormais cerebrais graves são: ventriculomegália grave (≥ 15 mm), hiperecogenicidade periventricular, hidrocefalia, microcefalia, mega cisterna magna, hipoplasia do vérmis, porencefalia, lisencefalia, lesões quísticas periventriculares da substância branca e agenesia do corpo caloso. Constituem alterações cerebrais ligeiras os seguintes achados ecográficos: ventriculomegália ligeira a moderada (10 - 15 mm), aderências intraventriculares, calcificações intracerebrais, quistos subependimais, quistos do plexo coroideu, calcificações dos vasos lenticuloestriados dos gânglios da

base. As principais características extracerebrais sugestivas de infecção fetal por CMV a destacar são a hiperecogenicidade intestinal, hepatomegália, esplenomegália, restrição do crescimento fetal, oligoâmnios, polihidrâmnios, ascite, derrame pleural, hidrôpsia fetal, placentomegália e calcificações intrahepáticas.²³⁻²⁵

Entre os achados laboratoriais sugestivos de infecção fetal por CMV relevantes para o prognóstico fetal destacam-se a virémia fetal $\geq 4.93 \log_{10}$ UI/mL e a contagem plaquetária fetal $\leq 114\ 000/\text{mm}^3$, na amostra de sangue fetal colhida por cordocentese.^{23,26} De realçar que os parâmetros séricos apresentam um maior valor preditivo comparativamente à carga viral fetal no líquido amniótico (LA), tendo em conta que esta aumenta ao longo da gestação pela acumulação no LA de CMV excretado na urina fetal.^{23,27}

A presença de achados ecográficos ligeiros (OR 18.3, IC 95%: 4.3-78.0), virémia fetal elevada (OR 5.7, IC 95%: 2.0-16.5) e contagem plaquetária fetal baixa (OR 0.7, IC 95%: 0.6-0.9) constituem fatores preditivos independentes de mau prognóstico fetal.²³ Leruez-Ville et al. revelaram que a avaliação ecográfica fetal isolada apresenta um valor preditivo negativo (VPN) elevado (93%) para a presença de sintomas à nascença ou de lesões cerebrais graves identificadas no feto após interrupção da gravidez, mas um valor preditivo positivo (VPP) apenas de 60%. Nos casos com avaliação isolada por ecografia fetal encontraram alterações ecográficas no terceiro trimestre em vários fetos que previamente não apresentavam sinais imagiológicos de infecção. Desta forma, vários estudos concluíram que uma avaliação ecográfica normal não garante a exclusão de sintomas à nascença ou sequelas pós-natais, recomendando a combinação da avaliação fetal ecográfica com parâmetros analíticos pelo valor preditivo adicional (VPP 79% e VPN 91%), benéfico na avaliação prognóstica pré-natal precoce.^{23,27}

A ressonância magnética (RM) fetal demonstrou também ser um excelente fator preditivo independente para surdez neurosensorial (OR 5.8, IC 95%: 2.4-13.7) e défices neurológicos pós-natais (OR 3.9, IC 95%: 1.6-9.8), mas sem correlação com a gravidade das sequelas, num estudo com vigilância pós-natal de 121 casos com infecção cCMV.²⁸ Neste artigo por Cannie et al. os achados imagiológicos da RM fetal são classificados em: grau 1) achados normais; grau 2) presença de sinais hiperintensos em T2 periventriculares frontais ou parieto-occipitais isolados; grau 3) presença de sinais hiperintensos em T2 periventriculares temporais isolados; grau 4) presença de quistos

e/ou septos nos lobos temporal e/ou occipital; grau 5) presença de distúrbios migratórios, hipoplasia cerebral e microcefalia. As características de grau 2, apesar de serem frequentes na infecção cCMV, não estão associadas a surdez neurosensorial e podem determinar o diagnóstico de falsos positivos. Pelo contrário, as características de grau 4 ou 5 associam-se fortemente a surdez neurosensorial (55% e 66% dos fetos com o respetivo grau de RM) e a défices neurológicos sequelares pós-natais (25% e 66% dos fetos com o respetivo grau de RM).^{26,28} Cannie et al. confirmou ainda que os achados neuroimagiológicos da RM fetal de grau 4 ou superior têm maior valor preditivo quer para surdez neurosensorial (VPP 57.7%, IC 95%: 38.7-76.7 e VPN 96.8%, IC 95%: 91.1-99.3) quer para défices neurológicos (VPP 34.6%, IC 95%: 17.2-55.7 e VPN 99.0%, IC 95%: 94.3-100,0), comparativamente aos achados cerebrais da avaliação ecográfica pré-natal (VPP 25.9%, IC 95%: 11.1-46.3, e VPN 88.3%, IC 95%: 81.8-94.8, para surdez neurosensorial; VPP 22.2, IC 95%: 8.6-42.3, e VPN 98.7, IC 95%: 89.5-98.8, para défices neurológicos). Recomenda-se ainda que avaliação fetal por RM seja realizada às 27 semanas, não tendo que aguardar pelas 32 semanas de gestação, uma vez que a previsão das sequelas pós-natais é igualmente precisa nessa idade gestacional.

Do mesmo modo, Faure-Bardon et al., através do estudo de 62 casos de infecção cCMV, também verificaram que a avaliação pré-natal adicional com RM aumenta o valor preditivo para sequelas graves pós-natais relativamente à ecografia fetal isolada (VPP 60% vs 26%, respetivamente), detetando alterações cerebrais na RM não identificadas ecograficamente. Os autores recomendam a avaliação fetal ecográfica sequencial, iniciada entre as 15 e as 17 semanas de gestação, combinada com a avaliação fetal por RM, no segundo e terceiro trimestres. A combinação de exames de avaliação fetal permite obter um melhor valor preditivo de sintomas à nascença e de sequelas moderadas a graves e, conseqüentemente, prestar um melhor aconselhamento durante a gestação.²⁶ Na tabela 1 encontram-se resumidos os valores preditivos positivos e negativos, assim como taxas de sensibilidade e especificidade, das avaliações fetais ecográficas isoladas e em combinação com os achados da RM, determinados por Faure-Bardon et al.

Tabela 1 - Prognóstico de sintomas à nascença e sequelas moderadas a graves de acordo com a avaliação fetal²⁶

| Avaliação fetal | | Sens (%) | Esp (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---|---|----------|---------|---------|---------|
| PROGNÓSTICO DE SINTOMAS À NASCENÇA | | | | | |
| Ecografia 3º trimestre normal | Ecografia 3º trimestre normal isolada (normal vs anormal) | 67 | 54 | 47 | 73 |
| | + RM (normal vs ≥ grau 2) | 57 | 74 | 44 | 82 |
| | + Ecografias 3º trimestre sequenciais com achados cerebrais | 43 | 95 | 75 | 82 |
| Ecografia 3º trimestre extracerebral | Ecografia 3º trimestre extracerebral normal isolada (normal vs anormal) | 63 | 59 | 48 | 73 |
| | + RM (normal vs ≥ grau 2) | 58 | 77 | 70 | 67 |
| | + Ecografias 3º trimestre sequenciais com achados cerebrais | 17 | 85 | 50 | 52 |
| PROGNÓSTICO DE SEQUELAS MODERADAS A GRAVES | | | | | |
| Ecografia 3º trimestre normal | Ecografia 3º trimestre normal isolada (normal vs anormal) | 67 | 45 | 26 | 82 |
| | + RM (normal vs ≥ grau 2) | 100 | 86 | 60 | 100 |
| | + Ecografias 3º trimestre sequenciais com achados cerebrais | 67 | 93 | 67 | 93 |
| Ecografia 3º trimestre extracerebral | Ecografia 3º trimestre extracerebral normal isolada (normal vs anormal) | 67 | 50 | 30 | 82 |
| | + RM (normal vs ≥ grau 2) | 50 | 57 | 33 | 73 |
| | + Ecografias 3º trimestre sequenciais com achados cerebrais | 17 | 79 | 25 | 69 |

(RM – ressonância magnética; Sens – sensibilidade; Esp – especificidade; VPP – valor preditivo positivo; VPN – valor preditivo negativo)

Faure-Bardon, V., Millischer, A. E., Deloison, B., Sonigo, P., Grévent, D., Salomon, L., Stirnemann, J., Nicloux, M., Magny, J. F., Leruez-Ville, M., & Ville, Y. (2020). Refining the prognosis of fetuses infected with Cytomegalovirus in the first trimester of pregnancy by serial prenatal assessment: a single-centre retrospective study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*, 127(3), 355–362.

Diagnóstico da infeção congénita no recém-nascido e prognóstico pós-natal

A deteção de ADN de CMV por PCR na urina do recém-nascido, nas 2 a 3 semanas pós-natais, mantem-se como *gold standard* do diagnóstico da infeção congénita por CMV. A pesquisa de ADN viral por PCR na saliva do recém-nascido também tem sido referida ao longo dos vários estudos, mas comporta uma elevada taxa de falsos positivos (VPP 73%), devido à contaminação após amamentação ou contacto com as secreções

endocervicais no canal de parto de mães seropositivas para o CMV.²⁹ Os testes de PCR em amostras de gota de sangue seco para pesquisa de ADN de CMV demonstraram pouca utilidade quer a identificar infecção cCMV em recém-nascidos quer a prever o risco de sequelas, nomeadamente surdez neurosensorial, apresentando baixa sensibilidade a identificar ADN viral.^{30,31} A realização de testes diagnósticos de infecção congénita no recém-nascido, para além de confirmarem a infecção cCMV fetal identificada durante a gestação, servem também como rastreio quando o recém-nascido apresenta à nascença sintomatologia sugestiva de infecção por CMV, com particular atenção para alterações do rastreio auditivo.

Um recém-nascido com infecção cCMV poderá apresentar-se assintomático ou sintomático à nascença. Os sintomas característicos desta infecção congénita no recém-nascido compreendem a presença de alterações no exame físico, nomeadamente petéquias, púrpura, icterícia, hepatomegália, esplenomegália, hipotonia, crises convulsivas ou parésias, coriorretinite, surdez neurosensorial (limiar auditivo >25 dB), microcefalia (circunferência craniana inferior a 2 DP) ou leve para a idade gestacional (peso à nascença inferior ao percentil 10). Estão também associadas à infecção por CMV alterações séricas, nomeadamente a trombocitopénia (contagem plaquetária <100x10³/µL), níveis elevados de ALT (>80 UI/L) e hiperbilirrubinémia (bilirrubina direta >2 mg/dL), assim como alterações neurológicas reveladas na ecografia transfontanelar ou na RM.²² A infecção cCMV demonstrou ainda um maior risco de prematuridade (parto <32 semanas; OR 34.5, IC 95%: 26.9-44.2) e má progressão estatura-ponderal nos primeiros 2 anos de vida (crescimento inferior a 2 DP da população geral ou igual ou inferior ao percentil 3), em recém-nascidos com peso adequado à idade gestacional à nascença.^{17,32} Dos achados neuroimagiológicos alterados consideram-se: alterações da substância branca, aderências ventriculares, calcificações intracranianas, ventriculomegália (aumento mais de 4 mm acima do percentil 97, segundo o Índice de Levene), hipoplasia cerebelar, lesões isquémicas do SNC, microcefalia, quistos periventriculares, quistos subependimais/caudotalâmicos, polimicrogiria, lisencefalia ou outras alterações migratórias.²² Os achados mais frequentes nos recém-nascidos com cCMV são petéquias ou púrpura, trombocitopénia e quistos periventriculares (em ecotransfontanelar) e alterações da substância branca (em RM).

Existe um risco maior de sequelas à nascença associado a infeções maternas primárias no primeiro trimestre da gestação (32.4%)²⁰, nomeadamente de surdez neurosensorial e de alterações neurológicas, comparativamente aos fetos infetados no decorrer de uma infeção materna primária no segundo ou terceiro trimestre, tendo estes como principal consequência serem recém-nascidos pequenos para a idade gestacional.^{5,20} Ressalva-se que um exame físico normal não exclui a presença de alterações analíticas ou neuroimagiológicas. A prevalência da surdez neurosensorial, variável entre diferentes estudos, é substancialmente maior em recém-nascidos sintomáticos, entre 40 a 63%, comparativamente aos assintomáticos, entre 8 a 25%. A surdez nos recém-nascidos sintomáticos é frequentemente bilateral e mais grave, enquanto que nos assintomáticos é mais comum uma surdez ligeira e unilateral.^{5,33,34} Estudos recentes revelaram uma prevalência elevada de progressão da surdez ao longo dos primeiros anos de vida da criança com infeção cCMV e, em menor frequência, instalação de surdez tardiamente. De facto, Fouloun et al. avaliaram a audição de 157 crianças com infeção cCMV ao longo de 4 anos, num estudo prospetivo de 22 anos, tendo descrito uma melhoria auditiva em 45% das crianças com surdez neurosensorial à nascença, uma progressão da surdez em 53.8%, uma instalação tardia da surdez em 4.5% e flutuações da audição em 5.7%. Confirmaram ainda uma maior prevalência de surdez neurosensorial em recém-nascidos infetados na sequência de uma infeção materna primária no primeiro trimestre (29.4%, $p = 0.029$). Goderis et al., num estudo prospetivo que incluiu 379 crianças nascidas entre 2007 e 2014 em seis centros da Bélgica, observaram que 29% das crianças sintomáticas com infeção cCMV recorreram a amplificação auditiva, das quais 60% precisaram de implante coclear uni ou bilateral. Relativamente a crianças assintomáticas, 1.6% também apresentavam surdez bilateral e/ou profunda com necessidade de amplificação auditiva. Este estudo revelou ainda que 50% dos casos de surdez de instalação tardia em crianças com infeção cCMV são diagnosticados nos primeiros 14 meses de vida e 75% dos casos nos primeiros 24 meses de vida após o nascimento.³³

Na avaliação dos recém-nascidos, a ecografia transfontanelar revelou ser um bom preditor do desenvolvimento de surdez neurosensorial.⁵ Contudo, num estudo prospetivo de 2011 a 2017 que reuniu 107 crianças de 48 centros espanhóis, Blázquez-Gamero et al. demonstraram que a RM fornece informação adicional nos recém-

nascidos sintomáticos comparativamente à ecografia, tendo identificado alterações na RM em 27.7% (13/47) dos recém-nascidos com a primeira ecografia neonatal normal. Determinou-se também que alterações na RM (OR 7.5, IC 95%: 1.2-45.3; $p = 0.028$) e alterações no teste de rastreio auditivo (OR 8.5, IC 95%: 1.9-37.8; $p = 0.005$) são fatores de risco independentes para o desenvolvimento de sequelas aos 12 meses de idade.²² No entanto, em recém-nascidos assintomáticos e com avaliações ecográficas normais, a relevância da realização de RM por rotina não está ainda estabelecida. Torna-se, assim, importante responder a esta questão, uma vez que o risco de desenvolver surdez neurosensorial não é nulo, mesmo com imagens neurológicas normais. Foi descrito por Foulon et al. um risco de 6.6% de desenvolver surdez neurosensorial em recém-nascidos com infecção por cCMV com avaliações ecográficas e por RM normais.⁵ Adicionalmente aos exames imagiológicos, a carga viral sérica neonatal também poderá contribuir para a avaliação do envolvimento do sistema nervoso central em recém nascidos com infecção cCMV. Marsico et al. demonstraram uma proteção ou melhoria da audição ao longo das avaliações de vigilância dos recém nascidos infetados com cargas virais ≤ 3 log (VPN 93%; IC 95%: 79-100), mas com um VPP fraco (32%; IC 95%: 20-43).³⁵

Os resultados encontrados nestes estudos destacam a importância de diagnosticar a infecção cCMV e avaliar precocemente os recém-nascidos infetados, para definir o prognóstico e permitir uma avaliação auditiva criteriosa a longo prazo das crianças com infecção cCMV. Através de um plano de vigilância será possível avaliar a progressão da surdez e diagnosticar os casos de instalação tardia, permitindo oferecer a reabilitação auditiva adequada, essencial para o correto desenvolvimento intelectual da criança. Foulon et al. recomendaram um protocolo de vigilância nos recém-nascidos com infecção sintomática constituído pelo menos por 4 avaliações auditivas no primeiro ano de vida e de 6 em 6 meses até aos 4 anos de idade. Após os 4 anos de idade apenas crianças com surdez congénita beneficiam de uma vigilância da evolução auditiva, dado que a instalação de surdez após esta idade não se correlaciona com infecção cCMV, sendo necessário investigar outras causas.⁵ Por outro lado, Goderis et al. sugeriram que também seja realizado rastreio auditivo aos recém-nascidos assintomáticos infetados, de forma a evitar falhas de diagnóstico.³³

Prevenção da infeção materna e da transmissão materno-fetal e tratamento

A redução da prevalência da infeção congénita por CMV passa em primeiro lugar por prevenir a infeção materna primária por CMV, através de medidas de higiene ou da vacinação, e em segundo lugar por evitar a transmissão vertical da infeção para o feto quando já ocorreu seroconversão materna, recorrendo a terapêuticas com hiperimunoglobulina ou antivirais contra o CMV. No caso de estabelecida a infeção fetal, o principal objetivo é diminuir a gravidade das sequelas.

Medidas de Higiene

Uma das principais formas de transmissão do CMV na mulher é o contacto próximo com crianças pequenas (menos de 36 meses de idade), especialmente crianças entre um e dois anos de idade, as quais apresentam uma maior prevalência de excreção do vírus na urina e saliva.³⁶ A excreção viral, em crianças com infeção quer congénita quer não congénita, mantém-se durante um longo período de tempo, diminuindo até aos cinco anos de vida.³⁶ Deste modo, as mulheres com maior suscetibilidade de adquirirem a infeção são cuidadoras de crianças com menos de 36 meses de idade, progenitoras ou cuidadoras em infantários ou em instituições de saúde, e mulheres grávidas com menos de 20 anos. A estratégia recomendada para prevenção primária da infeção por CMV materna e, conseqüentemente, da cCMV, consiste numa intervenção precoce nas mulheres grávidas ou que planeiam engravidar, onde são dadas informações sobre o vírus, as possíveis vias de transmissão, as manifestações da infeção materna e as sequelas fetais e do recém-nascido. Nessa intervenção devem ser dadas recomendações de medidas de higiene, nomeadamente lavar frequente das mãos após exposição a fluídos corporais de crianças pequenas e após contacto com superfícies tocadas por crianças; evitar beijar as crianças na boca ou nas bochechas; e não partilhar objetos, comida, bebida ou toalhetas, entre outros. Até ao momento, diversos estudos comprovaram a eficácia desta intervenção na redução da taxa de infeção primária materna. De facto, Revello et al. demonstraram que as 331 mulheres do grupo de intervenção prospetiva (2013-2014), que seguiram as medidas de higiene, apresentaram um menor risco (1.2%) de adquirir a infeção por CMV comparativamente às 315 mulheres não intervencionadas (7.6%) ($\Delta = 6.4\%$, IC 95%: 3.2-9.6; $p = 0.001$). Concluíram que seria necessário aconselhar 16 mulheres para prevenir a seroconversão

a CMV de 1 mulher grávida (1/0.064; IC 95%: 10-30).³⁷ Nos estudos realizados observou-se uma boa adesão às recomendações de higiene, em grande parte motivada pelo conhecimento das consequências da infeção, revelando a importância da realização de uma breve intervenção em contexto de consulta, possibilitando a oportunidade de esclarecimento de dúvidas da mulher.³⁸⁻⁴¹ A eficácia da intervenção depende do conhecimento do *status* seronegativo da mulher gestante, sendo maior quando implementada no período pré-concepcional.³⁷

Vacina

A procura por uma vacina contra o CMV tem sido uma das prioridades na investigação da prevenção da infeção cCMV. Tendo em conta a menor taxa de infeção congénita após uma infeção não-primária por CMV, coloca-se como objetivo da vacinação a indução de uma resposta imunitária semelhante à resposta natural da infeção por CMV. Neste momento destacam-se duas vacinas a serem estudadas para a prevenção da infeção cCMV: a vacina gB/MF59, constituída pela subunidade da glicoproteína B recombinada do CMV humano (20 µg) com o adjuvante MF59 (10.75 mg); e a vacina V160, uma vacina com defeito de replicação, determinado pela ausência de excreção do vírus na urina ou saliva, que contém na sua composição o complexo pentamérico gH/gL/pUL128-131.

Das múltiplas glicoproteínas membranares do CMV, existem dois complexos essenciais para a invasão viral nas células: a glicoproteína B (gB) e o complexo pentamérico gH/gL/pUL128-131, formado pelo dímero gH-gL e as proteínas virais UL128, UL130 e UL131. A gB é importante para a ligação e fusão do vírus às células, tendo cinco domínios antigénicos (AD 1-5) à superfície, alvo de anticorpos específicos da gB. A entrada do vírus em células endoteliais e epiteliais é dependente da ação do complexo pentamérico.⁴²

A vacina gB/MF59 tem recebido mais atenção por parte da comunidade científica, uma vez que já tem uma eficácia comprovada de cerca de 50% contra a infeção primária do CMV em mulheres seronegativas vacinadas. A vacina apresenta um perfil de segurança adequado, com registo de apenas alguns efeitos adversos locais (dor) e sistémicos ligeiros (fadiga e cefaleias). Num estudo aleatorizado de fase II a vacina foi administrada em 3 doses a 402 adolescentes do sexo feminino, registando

uma eficácia de 43% (IC 95%: 36-76; $p = 0.200$) e imunogenicidade, com níveis elevados de anticorpos anti-gB.⁴³ Neste estudo por Bernstein et al. documentou-se um aumento de 10 vezes dos anticorpos anti-gB (1204 UE/mL; IC 95%: 1075-1349), aos 5 meses após a segunda dose, e um novo aumento de 10 vezes dos anticorpos anti-gB (13 400 UE/mL; IC 95%: 11 436-15 700), após a terceira dose da vacina. Os níveis de anticorpos mantiveram-se elevados até dois anos após a vacinação, com níveis semelhantes aos registados após a toma da segunda dose. Nelson et al., num estudo aleatorizado de fase II constituído por 33 mulheres, com grupo placebo de controlo, propuseram que a eficácia de 50% da vacina e a resposta imunológica demonstradas são atribuídas às funções antivirais não neutralizantes da vacina gB/MF59, ou seja, através da produção de anticorpos não neutralizantes específicos ao AD-3 da gB. A eficácia parcial desta vacina é negativamente associada à fraca resposta de anticorpos neutralizantes, especificamente do epítipo 1 do AD-2 da gB.^{43,44} Nelson et al. observou ainda uma diminuição da excreção viral na saliva sem diminuição da carga viral noutros fluidos corporais e uma compartimentalização anatómica de anticorpos gB induzidas pela vacina. Também verificaram nos sujeitos vacinados com gB/MF59 uma redução de infeção para os genótipos gB1/2/4 do CMV (existem 5 genótipos do CMV, pertencentes a dois supergrupos: gB1/2/4 e gB 3/5), comparativamente ao grupo placebo. No entanto esta redução da taxa de infeção é estatisticamente significativa quando os autores utilizaram um método de sequenciação do genoma dos genótipos do CMV ($p = 0.0035$), mas não é significativa através de outro método de genotipagem ($p = 0.266$). Desta forma, a proteção contra a infeção por estes genótipos justifica uma eficácia da vacina apenas de 26% e não de 50% já confirmada, mas que ajuda a perceber os mecanismos de ação da vacina.⁴⁴

A vacina V160 tem apresentado resultados promissores, revelando uma estimulação eficaz da resposta de células T, da resposta imunitária humoral e da memória imunológica, com níveis de anticorpos neutralizantes em células epiteliais sobreponíveis aos de sujeitos infetados naturalmente por CMV (0.7 vezes, IC 95%: 0.2-2.5 vezes; aos 7 meses após vacinação) e com níveis excedentes em células fibroblásticas comparativamente aos sujeitos infetados (2.4 vezes, IC 95%: 0.4-12.5 vezes; aos 7 meses após vacinação). Está também documentada a neutralização da entrada do vírus em células epiteliais da mucosa oral, células endoteliais e células do citotrofoblasto,

cl clinicamente relevantes na infeção materna e fetal. De facto, a vacina V160 demonstrou, com boa tolerância, uma estimulação da imunidade adquirida semelhante à resposta da infeção natural por CMV, com produção de anticorpos com avidéz elevada após a terceira imunização (*index* da avidéz entre 75 a 90%). Desta forma, a V160 distingue-se da vacina gB/MF59 pela indução de anticorpos neutralizantes e por apresentar o complexo pentamérico gH/gL/pUL128-131 na sua composição, determinante para o tropismo do CMV para infetar células epiteliais e endoteliais e para a resposta neutralizante de diferentes isolados clínicos de CMV.^{46,47}

Os excelentes progressos observados na investigação de uma vacina contra o CMV incitam à continuação do estudo das vacinas gB/MF59 e V160, em estudos de eficácia com um número mais elevado de casos, para imunização da população na pré-adolescência ou de mulheres seronegativas em idade reprodutiva.

Hiperimunoglobulina

Uma vez que não existe uma vacina eficaz até ao momento, tem-se dado especial atenção à utilização da HIG para a prevenção da transmissão viral materno-fetal. De facto, a terapêutica com HIG durante a gestação tem documentado efeitos relevantes quer na redução da infeção fetal quer na prevenção de sintomas e sequelas dos fetos infetados, com um bom perfil de segurança. Nigro et al. avaliaram 358 grávidas com primoinfeção a CMV, tendo a administração de HIG às grávidas demonstrado uma redução da infeção cCMV (OR=0.3, IC 95%: 0.2-0.5; p=0.001) e uma associação significativa ao aumento de peso à nascença (r=0.16, p=0.006) e menor percentagem de prematuridade em recém-nascidos assintomáticos (r=0.15, p=0.015).⁴⁸⁻⁵⁰ Os autores deste estudo sugeriram que estes efeitos resultavam da melhoria da função placentária induzida pela HIG administrada, uma vez que se reconheceu uma diminuição da inflamação da placenta e uma redução da placentomegália característica numa infeção materna por CMV.⁴⁸

Inicialmente os estudos mostravam apenas uma neutralização da entrada do vírus nas células epiteliais *in vitro*, sem demonstrar prevenção da transmissão materno-fetal de CMV *in vivo*, sendo a ineficácia atribuída ao tempo de semi-vida curto da HIG *in vivo*.⁵¹ A administração de doses de 100 UI por kg de peso da gestante infetada com CMV demonstrou um efeito favorável nos sintomas e sequelas fetais, mas não registou

uma redução da infecção fetal.⁵⁰ A prevenção eficaz da transmissão materno-fetal foi alcançada com um aumento da dose para 200 UI por kg de peso da gestante infetada, administrada duas vezes por semana até às 20 semanas de gestação ou até ser atingido um valor médio de IgG sérica materna superior a 100 UI/mL 7 dias após a última administração da HIG. Este protocolo de administração de HIG foi aplicado por Kagan et al. a 40 grávidas com primoinfecção no primeiro trimestre, num estudo prospetivo realizado num centro alemão. Verificou-se uma redução da taxa de transmissão vertical de 35,2% (IC 95%: 26.2-45.0%) na população sem terapêutica para 2,5% na amniocentese (IC 95%: 0-13.2%) e 7,5% no pós-parto (IC 95%: 1.6-20.4%) no grupo sob tratamento com HIG ($p < 0.0001$). Neste estudo, nenhum dos 3 fetos infetados na sequência da infecção materna primária apresentou sinais intrauterinos nem sintomas à nascença, após administração materna de HIG durante a gestação. Este protocolo terapêutico de 200 UI/kg de HIG bissemanal permitiu manter uma avidéz da IgG elevada e estável, assim como uma concentração elevada de anticorpos neutralizantes específicos para o CMV, apesar da capacidade de ligação do antígeno de CMV ter sido flutuante.⁴⁹

A administração da HIG deve ser iniciada o mais precocemente possível após a instalação da infecção materna para que seja obtido o sucesso terapêutico na prevenção da transmissão fetal.⁴⁹

Antivirais

O ganciclovir, o valganciclovir e o valaciclovir têm sido os anti-virais estudados como terapêutica para a diminuição de sequelas dos fetos e recém-nascidos infetados por CMV, nos períodos pré e pós-natal.

O valaciclovir tem sido o fármaco preferido para o tratamento durante a gestação, devido ao melhor perfil de segurança e de tolerância, com registo de aumento ligeiro dos níveis de AST e ALT maternos, sem relevância clínica. Leruez-Ville et al. demonstraram a eficácia do valaciclovir em melhorar o prognóstico dos fetos infetados por CMV, num estudo multicentro com 41 grávidas com infecção primária a CMV que receberam 8 g diárias de valaciclovir. Registou-se um aumento significativo da taxa de recém-nascidos assintomáticos (83%, IC 95%: 67-88%), comparativamente ao grupo de gestantes que não recebeu a terapêutica (43%, IC 95%: 29-57%). Comprovou-se também

uma melhoria da trombocitopénia nos fetos após terapêutica com valaciclovir, com uma diferença de plaquetas de $101\ 000/\text{mm}^3$ (IIQ: 47 500-122 000; $p < 0.001$).⁵² Num estudo placebo-controlo aleatorizado com 45 grávidas com infeção primária a CMV em cada grupo, Shaha-Nissan et al. comprovaram que o tratamento com valaciclovir durante a gestação diminuiu o número de casos de infeção fetal sintomática (OR 0.4, IC 95%: 0.1-1.6) e diminuiu a taxa de transmissão vertical de CMV (OR 0.3, IC 95%: 0.1-0.9), sendo tanto mais eficaz quanto mais precoce se iniciarem as administrações após a documentação da infeção materna primária.⁵³ Quando a infeção materna decorreu no período periconcepcional o tratamento não modificou significativamente a taxa de transmissão materno-fetal, possivelmente devido ao início tardio da terapêutica. A eficácia da terapêutica foi obtida com a administração de 8 g diárias de valaciclovir (500mg, 8 vezes por dia, ou 2g, 4 vezes por dia), por via oral, pelo menos durante 6 semanas para se obter sucesso na redução da transmissão vertical e até 24 semanas ou até ao parto para reproduzir efeitos no prognóstico clínico fetal.

No período pós-natal, Kimberlin et al. (2003) avaliaram inicialmente a terapêutica com ganciclovir intravenoso (6 mg/kg de 12 em 12 horas) durante 6 semanas, num estudo com 42 doentes em vigilância até aos 6 meses e outros 43 doentes em vigilância até pelo menos 1 ano de vida. Os autores demonstraram a capacidade do ganciclovir em prevenir a deterioração da audição aos 6 meses (OR 9.9, IC 95% = 2.0-48.4; $p < 0.01$) e após o primeiro ano de vida (OR 4.2, IC 95%: 1.2-14.4; $p = 0.02$) em recém-nascidos sintomáticos com infeção cCMV, quando a terapêutica era iniciada no primeiro mês de vida. No entanto, neste estudo este tratamento associou-se a graves efeitos adversos, nomeadamente toxicidade hematológica, com neutropénia grave em 63% dos 46 doentes tratados com ganciclovir, comparativamente a 21% dos 43 doentes do grupo de controlo ($p < 0.01$). Em modelos animais está reportada toxicidade gonadal e carcinogenicidade. Tendo em conta os efeitos adversos associados à terapêutica com ganciclovir recomenda-se uma monitorização constante.⁵⁴

Recentemente, Kimberlin et al. (2015) realizaram um estudo, caso-controlo aleatorizado, para comparação da terapêutica com valganciclovir durante 6 meses e 6 semanas de terapêutica em recém-nascidos com infeção cCMV, incluindo 109 participantes na primeira fase do estudo (6 semanas de terapêutica) e 96 participantes na segunda fase do estudo (47 participantes sobre 6 meses de terapêutica e 49 sob

placebo). Este estudo demonstrou a eficácia da terapêutica com valganciclovir oral (16 mg/kg, 2 vezes/dia), durante 6 semanas na melhoria da audição do melhor ouvido aos 6 meses em crianças com cCMV. A terapêutica com valganciclovir oral prolongada, durante 6 meses, apesar de não registar benefícios auditivos adicionais a curto prazo, demonstrou melhorar a audição 3 vezes mais ou proteger a audição normal aos 12 meses de vida (OR 3.0, IC 95%: 1.3-7.4; p = 0.01) e melhorar a audição 2.6 vezes mais aos 24 meses de vida (OR2.6, IC 95%: 1.05-6.43; p = 0.04), comparativamente ao tratamento com regime curto de 6 semanas. O tratamento prolongado com valganciclovir oral também apresentou benefícios moderados no neurodesenvolvimento das crianças infetadas com CMV. O valganciclovir em relação ao ganciclovir apresenta diversas vantagens: evita administrações intravenosas e apresenta um risco reduzido de desenvolvimento de neutropénia, requerendo especial atenção apenas nas primeiras 6 semanas de tratamento.⁵⁵

Discussão

A infeção cCMV destaca-se pela prevalência mundial de 0.64% e pelo impacto na saúde pública e na saúde individual das crianças afetadas, com uma taxa elevada de recém-nascidos sintomáticos (11%) e sequelas a longo prazo. No entanto, faltam estudos que revelem a realidade portuguesa para que seja possível avaliar o impacto desta doença a nível nacional e averiguar a relevância de realizar um rastreio universal de infeção materna por CMV. Em 2019 foi divulgado o primeiro e único estudo epidemiológico da infeção por CMV e cCMV em Portugal, realizado entre 2006 e 2011 através da Unidade de Vigilância Pediátrica Portuguesa. Este estudo revelou uma taxa de prevalência cumulativa à nascença em Portugal de 6.6/10⁵ nascimentos (IC 95%: 4.8-8.9), bastante inferior à taxa registada a nível mundial.⁵⁶ Esta discrepância entre taxas de prevalências, também verificada em outros países, sugere, por um lado, que os programas de vigilância utilizados não estão otimizados para registar todos os casos de infeção cCMV e, por outro lado, que existe um sub-reconhecimento e sub-diagnóstico de infeções maternas e infeções congénitas por CMV. De facto, a infeção materna muitas vezes não é detetada precocemente, já que apresenta um quadro sintomatológico inespecífico que poderá ser desvalorizado. Na maioria dos casos, em que não se realiza rastreio serológico materno para CMV, a suspeita de infeção fetal por

CMV decorre no seguimento de achados ecográficos fetais alterados. Existindo uma alta suspeita de infeção por CMV deve-se confirmar o diagnóstico da infeção materna e da infeção fetal, através de testes serológicos e da deteção de CMV por PCR no LA, respetivamente. Importa também datar a instalação da infeção materna, de forma a determinar o prognóstico fetal, já que existe um risco aumentado de infeção cCMV quando a infeção materna ocorre precocemente na gestação. Uma infeção materna instalada no primeiro trimestre, determinada pelo registo da seroconversão da IgG CMV ou por uma avidéz da IgG baixa com IgG e IgM positivas, assim como níveis elevados de IgM maternos no primeiro trimestre, virémia fetal elevada e contagem plaquetárias fetais baixas associam-se a um maior risco de infeção cCMV sintomática. Adicionalmente aos parâmetros analíticos, a combinação da avaliação ecográfica seriada ao longo da gestação e da avaliação fetal por RM no final do segundo semestre ou início do terceiro trimestre, apresentam um excelente valor prognóstico na previsão de sintomas e sequelas à nascença, nomeadamente a presença de surdez neurossensorial e défices neurológicos. A determinação do prognóstico fetal destaca-se com grande relevância, não só para prestar um melhor aconselhamento pré-natal no seguimento da gestação como para o planeamento adequado da vigilância pós-natal da criança.

Atualmente existem alguns tratamentos disponíveis para oferecer às grávidas e casais com infeção materna por CMV documentada que não pretendem interromper a gravidez. As terapêuticas com HIG e valaciclovir oral durante a gestação demonstraram eficácia quer a diminuir a taxa de transmissão materno-fetal quer a prevenir sequelas à nascença, aumentando a taxa de recém-nascidos assintomáticos infetados por CMV. No entanto, são necessários estudos de maiores dimensões, aleatorizados e de fase 3 para confirmar a eficácia destes tratamentos. Tanto na terapêutica com HIG como com valaciclovir, quanto mais precocemente se iniciarem as administrações após a infeção materna por CMV maior a probabilidade de sucesso terapêutico em melhorar o prognóstico fetal, revelando-se mais uma vez a importância de datar precocemente a instalação da infeção materna primária. O tratamento com HIG ou com valaciclovir são uma excelente opção a considerar em gestantes com infeção por CMV documentada ou em fetos infetados assintomáticos ou com sintomas ligeiros a moderados. Fetos com

alterações neuroimagiológicas graves apresentam um prognóstico reservado, sendo discutível o sucesso das terapêuticas a reduzir as sequelas.

No período pós-natal, importa realizar a avaliação do prognóstico do recém-nascido, através de exames físicos e neuroimagiológicos assim como de rastreios auditivos e de neurodesenvolvimento, para que seja definido o protocolo de vigilância adequado para avaliação da evolução auditiva da criança e para averiguar a necessidade de reabilitação auditiva e/ou tratamento anti-viral com valganciclovir oral. Concluindo-se que existem várias opções pré e pós-natais disponíveis para melhorar o desfecho dos fetos de gestantes infetadas por CMV.

A procura por uma vacina para prevenção da cCMV continua a ser uma das prioridades da investigação na infeção por CMV, contudo existem apenas duas potenciais vacinas ainda em estudo, a vacina gB/MF59 com eficácia de 50% atribuída a anticorpos não-neutralizantes, e a vacina V160, com o complexo pentamérico na composição, com indução de anticorpos neutralizantes. Os estudos destas vacinas têm resultados promissores, continuando a ser uma aposta importante da investigação para a prevenção da infeção cCMV. No entanto, a implementação de medidas de higiene continua a ser a intervenção com melhor eficácia na redução da taxa de infeção primária materna, e, conseqüentemente, da cCMV. Esta intervenção deve ser oferecida a todas as mulheres seronegativas com maior suscetibilidade para adquirir a infeção por CMV, ou seja, mulheres com contactos próximos com crianças pequenas.

Relativamente ao rastreio serológico materno de CMV, no período pré-natal permite identificar as mulheres seronegativas que beneficiariam das recomendações de medidas de higiene. A realização do rastreio no primeiro trimestre da gestação permite detetar precocemente a infeção materna primária e, assim, prestar o melhor aconselhamento e acompanhamento da gestação, possivelmente iniciando uma estratégia terapêutica precocemente. Apesar da implementação de um rastreio universal identificar antecipadamente casos de infeção primária materna, associada a um maior risco de infeção congénita e sequelas no recém-nascido, existe ainda um pequeno número, mas não desprezível, de recém-nascidos sintomáticos na sequência

de infeções maternas não-primárias, questionando o benefício acrescentado do rastreio sistemático.

Tabela 2 – Critérios para rastreios por Wilson e Jungner, pela OMS.

Critérios para testes de rastreio por Wilson e Jungner:

1. A condição pesquisada deve ser um problema importante de saúde;
2. Deverá existir um tratamento eficaz para os doentes com o diagnóstico da doença;
3. Recursos para o diagnóstico e tratamento devem estar disponíveis;
4. Deverá existir um estadió inicial sintomático ou latente reconhecível;
5. Deverá existir um teste ou exame adequado;
6. O teste deverá ser admissível para a população;
7. A história natural da condição, incluindo a evolução de fase latente a doença estabelecida, deverá ser suficientemente compreendida;
8. Deverá existir uma diretriz sobre quais os doentes a tratar;
9. O custo da descoberta de casos (incluindo diagnóstico e tratamento dos doentes diagnosticados) deve ser economicamente equilibrado em relação a possíveis despesas em cuidados de saúde no seu conjunto;
10. A descoberta de casos deve ser um processo contínuo e não um projeto de “uma vez e por todas”.

Segundo os princípios para implementação de rastreios aplicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS)⁵⁷ (Tabela 2), o rastreio universal serológico para deteção de infeção materna por CMV preenche a maioria dos critérios: a infeção por CMV tem uma alta prevalência e apresenta uma grande relevância clínica, com impacto na saúde pública. Estando descritas possíveis sequelas graves a longo prazo para o recém-nascido. Os seus mecanismos de transmissão e consequências fetais são conhecidos, existindo métodos de diagnósticos eficazes que permitem o reconhecimento precoce da infeção, assim como métodos de avaliação preditivos do prognóstico fetal. Apesar de já existirem opções terapêuticas com resultados favoráveis, ainda é necessário confirmar em estudos de maiores dimensões a eficácia demonstrada pela terapêutica da HIG ou do valaciclovir em reduzir a transmissão vertical e sequelas fetais no período pré-natal. Por outro lado, é importante determinar a taxa real da prevalência a nível nacional para estabelecer a custo-efetividade em realizar o rastreio universal de CMV na gravidez em Portugal, comparativamente ao rastreio seletivo de casos específicos já realizado. Assim como perceber se a deteção de gestantes com seroconversão para CMV, através do rastreio universal, acrescentaria benefícios custo-efetivos para implementar terapêuticas com HIG ou antivirais precocemente. Estas intervenções seriam relevantes para prevenção da transmissão vertical e de sequelas

fetais, no entanto nem todas as infecções maternas se refletem em infecção fetal e em recém-nascidos sintomáticos. Albright et al. afirmaram que o rastreio universal torna-se custo-efetivo com prevalências superiores a 0.82%, tendo em conta uma eficácia superior a 30% do tratamento gestacional com HIG, ou com prevalências superiores a 0.89% mesmo sem um tratamento eficaz com HIG.⁵⁸ As recomendações de medidas de higiene baixariam a taxa de prevalência necessária para que o rastreio universal fosse custo-efetivo.⁵⁸ Deste modo, destaca-se a importância de realizar um estudo epidemiológico otimizado em Portugal, realizar estudos aleatorizados de grandes dimensões para confirmar a eficácia das terapêuticas pré-natais e respetivos regimes, identificar as diferenças diagnósticas e prognósticas entre reinfeções e infecções de reativação do vírus latente e determinar a eficácia das terapêuticas nas infecções não-primárias. A compreensão destas lacunas no conhecimento sobre a infecção por CMV possibilitaria avaliar a pertinência da realização de um rastreio serológico universal ao CMV no primeiro trimestre da gestação.

Conclusão

Ao longo desta revisão da literatura foram resumidos os principais fatores de risco para infecção materna e infecção congénita por CMV conhecidos até à data, os progressos nos métodos de diagnóstico para identificar e datar a infecção materna e na interpretação de exames complementares para definir o prognóstico fetal, quer no período pré-natal como no pós-natal. Estas informações permitem apoiar a prática clínica, para o reconhecimento da infecção cCMV e vigilância adequada destas gestações, através de um protocolo composto por avaliações periódicas.

A demonstração da eficácia da HIG e do valaciclovir em reduzir a transmissão vertical e diminuir as sequelas fetais destacam-se como importantes progressos, existindo novas opções de tratamento para oferecer às gestantes com infecção por CMV. No entanto, enquanto não existe uma vacina totalmente eficaz, a intervenção mais relevante a implementar, tão precocemente na gestação quanto possível, são as medidas de higiene para prevenção da infecção materna primária.

A implementação de um rastreio serológico universal de infecção por CMV no primeiro trimestre da gestação encontra-se dependente de terapêuticas e vacinas

preventivas com eficácia comprovada e da caracterização epidemiológica da infeção por CMV em Portugal, para determinação da custo-efetividade do programa de rastreio.

Agradecimentos

Agradeço à Prof. Dr^a Susana Santo e ao Dr^o Rui Marques de Carvalho por terem aceitado orientar-me numa das últimas etapas do curso, pela disponibilidade e simpatia.

Um especial agradecimento à minha irmã pela motivação e apoio incondicionais dados desde o início do meu percurso académico, para além do exemplo como médica e pessoa que continua a ser para mim. Agradecer também aos meus pais pela constante presença, mesmo estando longe.

Por fim, às minhas amigas que me acompanham e promovem um ambiente de partilha e aprendizagem mútua.

Referências

1. Foulon, I., Naessens, A., Foulon, W., Casteels, A., & Gordts, F. (2008). A 10-Year Prospective Study of Sensorineural Hearing Loss in Children with Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Pediatr*, *153*(1), 84–88.
2. Kenneson, A., & Cannon, M. J. (2007). Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol*, *17*(4), 253–276.
3. Fowler, K. B., & Pass, R. F. (2006). Risk factors for congenital cytomegalovirus infection in the offspring of young women: exposure to young children and recent onset of sexual activity. *Pediatrics*, *118*(2), e286-92.
4. Prince, H. E., & Lapé-Nixon, M. (2014). Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. *Clin Vaccine Immunol*, *21*(10), 1377–1384.
5. Foulon, I., De Brucker, Y., Buyl, R., Lichtert, E., Verbruggen, K., Piérard, D., Camfferman, F. A., Gucciardo, L., & Gordts, F. (2019). Hearing Loss With Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics*, *144*(2), e20183095.
6. Delforge, M.-L., Eykmans, J., Steensels, D., Costa, E., Donner, C., & Montesinos, I. (2019). Combination of line immunoassays Mikrogen recomLine CMV IgG and recomLine CMV IgG Avidity helps to date the onset of CMV primary infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*, *93*(3), 208–212.
7. Guisasola, M. E., Ramos, B., Sanz, J. C., García-Bermejo, I., & De Ory Manchón, F. (2010). Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. *APMIS*, *118*(12), 991–993.
8. Revello, M. G., Genini, E., Gorini, G., Klersy, C., Piralla, A., & Gerna, G. (2010). Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *J Clin Virol*, *48*(4), 255–259.
9. Torii, Y., Yoshida, S., Yanase, Y., Mitsui, T., Horiba, K., Okumura, T., Takeuchi, S., Suzuki, T., Kawada, J., Kotani, T., Yamashita, M., & Ito, Y. (2019). Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. *BMC Pregnancy Childbirth*, *19*(1), 205.
10. Toriyabe, K., Morikawa, F., Minematsu, T., Ikejiri, M., Suga, S., & Ikeda, T. (2017). Anti-cytomegalovirus immunoglobulin M titer for congenital infection in first-trimester pregnancy with primary infection: a multicenter prospective cohort

- study. *J Perinatol*, 37(12), 1272–1277.
11. Pereira, L., Petitt, M., Fong, A., Tsuge, M., Tabata, T., Fang-Hoover, J., Maidji, E., Zydek, M., Zhou, Y., Inoue, N., Loghavi, S., Pepkowitz, S., Kauvar, L. M., & Ogunyemi, D. (2014). Intrauterine Growth Restriction Caused by Underlying Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis*, 209(10), 1573–1584.
 12. Saldan, A., Forner, G., Mengoli, C., Tinto, D., Fallico, L., Peracchi, M., Gussetti, N., Palù, G., & Abate, D. (2016). Comparison of the Cytomegalovirus (CMV) Enzyme-Linked Immunosorbent Spot and CMV QuantiFERON Cell-Mediated Immune Assays in CMV-Seropositive and -Seronegative Pregnant and Nonpregnant Women. *J Clin Microbiol*, 54(5), 1352–1356.
 13. Forner, G., Saldan, A., Mengoli, C., Gussetti, N., Palù, G., & Abate, D. (2016). Cytomegalovirus (CMV) Enzyme-Linked Immunosorbent Spot Assay but Not CMV QuantiFERON Assay Is a Novel Biomarker To Determine Risk of Congenital CMV Infection in Pregnant Women. *J Clin Microbiol*, 54(8), 2149–2154.
 14. Fowler, K. B., Stagno, S., & Pass, R. F. (2003). Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*, 289(8), 1008–1011.
 15. Leruez-Ville, M., Guilleminot, T., Stirnemann, J., Salomon, L. J., Spaggiari, E., Faure-Bardon, V., Magny, J., & Ville, Y. (2020). Quantifying the Burden of Congenital Cytomegalovirus Infection With Long-term Sequelae in Subsequent Pregnancies of Women Seronegative at Their First Pregnancy. *Clin Infect Dis*, 71(7), 1598–1603.
 16. Inagaki, K., Blackshear, C., Palmer, A., & Hobbs, C. V. (2018). Risk Factors, Geographic Distribution, and Healthcare Burden of Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection in the United States: Analysis of a Nationally Representative Database, 2000-2012. *J Pediatr*, 199, 118-123.e1.
 17. Kadambari, S., Pollard, A. J., Goldacre, M. J., & Goldacre, R. (2020). Congenital viral infections in England over five decades: a population-based observational study. *Lancet Infect Dis*, 20(2), 220–229.
 18. Fowler, K. B., Ross, S. A., Shimamura, M., Ahmed, A., Palmer, A. L., Michaels, M. G., Bernstein, D. I., Sánchez, P. J., Feja, K. N., Stewart, A., & Boppana, S. (2018). Racial and Ethnic Differences in the Prevalence of Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Pediatr*, 200, 196-201.e1.
 19. Feldman, B., Yinon, Y., Tepperberg Oikawa, M., Yoeli, R., Schiff, E., & Lipitz, S. (2011).

- Pregestational, periconceptual, and gestational primary maternal cytomegalovirus infection: prenatal diagnosis in 508 pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*, 205(4), 342.e1-342.e6.
20. Faure-Bardon, V., Magny, J.-F., Parodi, M., Couderc, S., Garcia, P., Maillotte, A.-M., Benard, M., Piquier, D., Astruc, D., Patural, H., Pladys, P., Parat, S., Guillois, B., Garenne, A., Bussi eres, L., Guilleminot, T., Stirnemann, J., Ghout, I., Ville, Y., & Leruez-Ville, M. (2019). Sequelae of Congenital Cytomegalovirus Following Maternal Primary Infections Are Limited to Those Acquired in the First Trimester of Pregnancy. *Clin Infect Dis*, 69(9), 1526–1532.
 21. Tabata, T., Petitt, M., Zydek, M., Fang-Hoover, J., Larocque, N., Tsuge, M., Gormley, M., Kauvar, L. M., & Pereira, L. (2015). Human Cytomegalovirus Infection Interferes with the Maintenance and Differentiation of Trophoblast Progenitor Cells of the Human Placenta. *J Virol*, 89(9), 5134–5147.
 22. Blázquez-Gamero, D., Soriano-Ramos, M., Martínez de Arag on, A., Baquero-Artigao, F., Frick, M. A., Noguera-Julian, A., Alonso-Ojembarrena, A., Moliner Calderón, E., Rives Ferreiro, M. T., Filgueira Posse, A., Garrote Llanos, E., Sota Busselo, I., Santos, M., Tagarro García, A., Bustamante, J., Soler-Palac n, P., Fortuny Guasch, C., & Rojo Conejo, P. (2019). Role of Magnetic Resonance Imaging and Cranial Ultrasonography in Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatr Infect Dis J*, 38(11), 1131–1137.
 23. Leruez-Ville, M., Stirnemann, J., Sellier, Y., Guilleminot, T., Dejean, A., Magny, J.-F., Couderc, S., Jacquemard, F., & Ville, Y. (2016). Feasibility of predicting the outcome of fetal infection with cytomegalovirus at the time of prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*, 215(3), 342.e1-342.e9.
 24. Carvalho, R. M. de, Santo, S., & Clode, N. (2016). Protocolos de Vigilância Ecográfica Patologia Fetal Departamento. *Dep Obs Ginecol e Med Da Reprodu o Hosp St Maria*, 1–59.
 25. Barros, J., & Carvalho, R. (2019). Restri o de Crescimento Fetal. *Serviço Obs Dep Obs Ginecol e Med Da Reprodu o Cent Hosp Lisboa Norte – Hosp St Maria*.
 26. Faure-Bardon, V., Millischer, A., Deloison, B., Sonigo, P., Gr event, D., Salomon, L., Stirnemann, J., Nicloux, M., Magny, J., Leruez-Ville, M., & Ville, Y. (2020). Refining the prognosis of fetuses infected with Cytomegalovirus in the first trimester of

- pregnancy by serial prenatal assessment: a single-centre retrospective study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*, 127(3), 355–362.
27. Leyder, M., Vosselmans, A., Done, E., Van Berkel, K., Faron, G., Foulon, I., Naessens, A., Jansen, A., Foulon, W., & Gucciardo, L. (2016). Primary maternal cytomegalovirus infections: accuracy of fetal ultrasound for predicting sequelae in offspring. *Am J Obstet Gynecol*, 215(5), 638.e1-638.e8.
 28. Cannie, M. M., Devlieger, R., Leyder, M., Claus, F., Leus, A., De Catte, L., Cossey, V., Foulon, I., Van der valk, E., Foulon, W., Cos, T., Bernaert, A., Oyen, R., & Jani, J. C. (2016). Congenital cytomegalovirus infection: contribution and best timing of prenatal MR imaging. *Eur Radiol*, 26(10), 3760–3769.
 29. Exler, S., Daiminger, A., Grothe, M., Schalasta, G., Enders, G., & Enders, M. (2019). Primary cytomegalovirus (CMV) infection in pregnancy: Diagnostic value of CMV PCR in saliva compared to urine at birth. *J Clin Virol*, 117(February), 33–36.
 30. Ross, S. A., Ahmed, A., Palmer, A. L., Michaels, M. G., Sánchez, P. J., Stewart, A., Bernstein, D. I., Feja, K., Fowler, K. B., & Boppana, S. B. (2017). Newborn Dried Blood Spot Polymerase Chain Reaction to Identify Infants with Congenital Cytomegalovirus-Associated Sensorineural Hearing Loss. *J Pediatr*, 184(5), 57-61.e1.
 31. Vives-Oñós, I., Codina-Grau, M. G., Noguera-Julian, A., Blázquez-Gamero, D., Fortuny, C., Baquero-Artigao, F., Frick, M. A., Saavedra-Lozano, J., Goycochea-Valdivia, W., Rives-Ferreiro, M. T., Montesdeoca-Melián, A., Calavia-Garsaball, O., Ferreras-Antolin, L., Marín-Soria, J. L., Dulín-Íñiguez, E., & Soler-Palacín, P. (2019). Is Polymerase Chain Reaction in Neonatal Dried Blood Spots Reliable for the Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection? *Pediatr Infect Dis J*, 38(5), 520–524.
 32. Tagarro, A., Del Valle, R., Dominguez-Rodríguez, S., Baquero-Artigao, F., Noguera-Julian, A., Vives-Oñós, I., Santos, M., Hawkins, M. M., Pérez-Seoane, B., Medina, G., Rojo, P., Frick, M. A., Alonso-Ojembarrena, A., Rives, M. T., Sota, I., Moliner, E., Colino, E., Cilleruelo, M. J., Ramos, J. T., ... Blázquez-Gamero, D. (2019). Growth Patterns in Children With Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatr Infect Dis J*, 38(12), 1230–1235.
 33. Goderis, J., Keymeulen, A., Smets, K., Van Hoecke, H., De Leenheer, E., Boudewyns,

- A., Desloovere, C., Kuhweide, R., Muylle, M., Royackers, L., Schatteman, I., & Dhooge, I. (2016). Hearing in Children with Congenital Cytomegalovirus Infection: Results of a Longitudinal Study. *J Pediatr*, *172*, 110-115.e2.
34. Kobas, M., Bickle Graz, M., Truttmann, A. C., Giannoni, E., Meylan, P., & Asner, S. A. (2019). Erratum to: Clinical characteristics, audiological and neurodevelopmental outcomes of newborns with congenital cytomegalovirus infection. *Swiss Med Wkly*, *148*(2324), w14628.
35. Marsico, C., Aban, I., Kuo, H., James, S. H., Sanchez, P. J., Ahmed, A., Arav-Boger, R., Michaels, M. G., Ashouri, N., Englund, J. A., Estrada, B., Jacobs, R. F., Romero, J. R., Sood, S. K., Whitworth, S., Jester, P. M., Whitley, R. J., & Kimberlin, D. W. (2019). Blood Viral Load in Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis*, *219*(9), 1398–1406.
36. Cannon, M. J., Hyde, T. B., & Schmid, D. S. (2011). Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol*, *21*(4), 240–255.
37. Revello, M. G., Tibaldi, C., Masuelli, G., Frisina, V., Sacchi, A., Furione, M., Arossa, A., Spinillo, A., Klersy, C., Ceccarelli, M., Gerna, G., & Todros, T. (2015). Prevention of Primary Cytomegalovirus Infection in Pregnancy. *EBioMedicine*, *2*(9), 1205–1210.
38. Adler, S. P., Finney, J. W., Manganello, A. M., & Best, A. M. (1996). Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus by changing behaviors: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J*, *15*(3), 240–246.
39. Adler, S. P., Finney, J. W., Manganello, A. M., & Best, A. M. (2004). Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women. *J Pediatr*, *145*(4), 485–491.
40. Vauloup-Fellous, C., Picone, O., Cordier, A.-G., Parent-du-Châtelet, I., Senat, M.-V., Frydman, R., & Grangeot-Keros, L. (2009). Does hygiene counseling have an impact on the rate of CMV primary infection during pregnancy? *J Clin Virol*, *46*, S49–S53.
41. Hughes, B. L., Gans, K. M., Raker, C., Hipolito, E. R., & Rouse, D. J. (2017). A Brief Prenatal Intervention of Behavioral Change to Reduce the Risk of Maternal Cytomegalovirus. *Obstet Gynecol*, *130*(4), 726–734.
42. Griffiths, P., Baraniak, I., & Reeves, M. (2015). The pathogenesis of human cytomegalovirus. *J Pathol*, *235*(2), 288–297.

43. Bernstein, D. I., Munoz, F. M., Callahan, S. T., Rupp, R., Wootton, S. H., Edwards, K. M., Turley, C. B., Stanberry, L. R., Patel, S. M., Mcneal, M. M., Pichon, S., Amegashie, C., & Bellamy, A. R. (2016). Safety and efficacy of a cytomegalovirus glycoprotein B (gB) vaccine in adolescent girls: A randomized clinical trial. *Vaccine*, *34*(3), 313–319.
44. Nelson, C. S., Huffman, T., Jenks, J. A., Cisneros de la Rosa, E., Xie, G., Vandergrift, N., Pass, R. F., Pollara, J., & Permar, S. R. (2018). HCMV glycoprotein B subunit vaccine efficacy mediated by nonneutralizing antibody effector functions. *Proc Natl Acad Sci*, *115*(24), 6267–6272.
45. Nelson, C. S., Vera Cruz, D., Su, M., Xie, G., Vandergrift, N., Pass, R. F., Forman, M., Diener-West, M., Koelle, K., Arav-Boger, R., & Permar, S. R. (2019). Intra-host Dynamics of Human Cytomegalovirus Variants Acquired by Seronegative Glycoprotein B Vaccinees. *J Virol*, *93*(5), 1–17.
46. Liu, Y., Freed, D. C., Li, L., Tang, A., Li, F., Murray, E. M., Adler, S. P., McVoy, M. A., Rupp, R. E., Barrett, D., Ye, X., Zhang, N., Beck, K., Culp, T., Das, R., Song, L., Vora, K., Zhu, H., Wang, D., ... Fu, T.-M. (2019). A Replication-Defective Human Cytomegalovirus Vaccine Elicits Humoral Immune Responses Analogous to Those with Natural Infection. *J Virol*, *93*(23), 1–19.
47. Adler, S. P., Lewis, N., Conlon, A., Christiansen, M. P., Al-Ibrahim, M., Rupp, R., Fu, T.-M., Bautista, O., Tang, H., Wang, D., Fisher, A., Culp, T., Das, R., Beck, K., Tamms, G., & Musey, L. (2019). Phase 1 Clinical Trial of a Conditionally Replication-Defective Human Cytomegalovirus (CMV) Vaccine in CMV-Seronegative Subjects. *J Infect Dis*, *220*(3), 411–419.
48. Nigro, G., Capretti, I., Manganello, A.-M., Best, A. M., & Adler, S. P. (2015). Primary maternal cytomegalovirus infections during pregnancy: association of CMV hyperimmune globulin with gestational age at birth and birth weight. *J Matern Neonatal Med*, *28*(2), 168–171.
49. Kagan, K. O., Enders, M., Schampera, M. S., Baeumel, E., Hoopmann, M., Geipel, A., Berg, C., Goelz, R., De Catte, L., Wallwiener, D., Brucker, S., Adler, S. P., Jahn, G., & Hamprecht, K. (2019). Prevention of maternal-fetal transmission of cytomegalovirus after primary maternal infection in the first trimester by biweekly hyperimmunoglobulin administration. *Ultrasound Obstet Gynecol*, *53*(3), 383–389.
50. Blázquez-Gamero, D., Galindo Izquierdo, A., Del Rosal, T., Baquero-Artigao, F.,

- Izquierdo Méndez, N., Soriano-Ramos, M., Rojo Conejo, P., González-Tomé, M. I., García-Burguillo, A., Pérez Pérez, N., Sánchez, V., Ramos-Amador, J. T., & De la Calle, M. (2019). Prevention and treatment of fetal cytomegalovirus infection with cytomegalovirus hyperimmune globulin: a multicenter study in Madrid. *J Matern Neonatal Med*, 32(4), 617–625.
51. Schampera, M. S., Schweinzer, K., Abele, H., Kagan, K. O., Klein, R., Rettig, I., Jahn, G., & Hamprecht, K. (2017). Comparison of cytomegalovirus (CMV)-specific neutralization capacity of hyperimmunoglobulin (HIG) versus standard intravenous immunoglobulin (IVIG) preparations: Impact of CMV IgG normalization. *J Clin Virol*, 90(Cmv), 40–45.
52. Leruez-Ville, M., Ghout, I., Bussi eres, L., Stirnemann, J., Magny, J.-F., Couderc, S., Salomon, L. J., Guilleminot, T., Aegerter, P., Benoist, G., Winer, N., Picone, O., Jacquemard, F., & Ville, Y. (2016). In utero treatment of congenital cytomegalovirus infection with valacyclovir in a multicenter, open-label, phase II study. *Am J Obstet Gynecol*, 215(4), 462.e1-462.e10.
53. Shahar-Nissan, K., Pardo, J., Peled, O., Krause, I., Bilavsky, E., Wiznitzer, A., Hadar, E., & Amir, J. (2020). Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 396(10253), 779–785.
54. Kimberlin, D. W., Lin, C.-Y., Sánchez, P. J., Demmler, G. J., Dankner, W., Shelton, M., Jacobs, R. F., Vaudry, W., Pass, R. F., Kiell, J. M., Soong, S., & Whitley, R. J. (2003). Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr*, 143(1), 16–25.
55. Kimberlin, D. W., Jester, P. M., Sánchez, P. J., Ahmed, A., Arav-Boger, R., Michaels, M. G., Ashouri, N., Englund, J. A., Estrada, B., Jacobs, R. F., Romero, J. R., Sood, S. K., Whitworth, M. S., Abzug, M. J., Caserta, M. T., Fowler, S., Lujan-Zilbermann, J., Storch, G. A., DeBiasi, R. L., ... Whitley, R. J. (2015). Valganciclovir for Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Disease. *N Engl J Med*, 372(10), 933–943.
56. Paix o, P., Brito, M. J., Virella, D., & Neto, M. T. (2019). Recurrent maternal CMV infection associated with symptomatic congenital infection: Results from a questionnaire study in Portugal. *BMJ Paediatr Open*, 3(1), 1–5.

57. Wilson, J. M. G., & Jungner, G. (1968). *Principles and practice of screening for disease*. World Health Organization.
58. Albright, C. M., Werner, E. F., & Hughes, B. L. (2019). Cytomegalovirus Screening in Pregnancy: A Cost-Effectiveness and Threshold Analysis. *Am J Perinatol*, 36(07), 678–687.