



Citomegalovírus: análise retrospectiva de casos suspeitos de infeção do sistema nervoso central diagnosticados entre 2010 e 2014

Sílvia Lopo, Tânia Reis, Paula Palminha, Elsa Vinagre, Cristina Furtado

silvia.lopo@insa.min-saude.pt

Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

_Introdução

O Citomegalovírus (CMV) é um vírus ubíquo pertencente à família *Herpesviridae*. A infeção pelo CMV é altamente prevalente em todo o mundo, com taxas de seropositividade que variam entre 40% e 100% na população adulta (1). Em Portugal, e de acordo com os resultados do Segundo Inquérito Serológico Nacional – 2001/2002, a seroprevalência para o CMV foi em média de 77%, variando entre 66,5% no grupo etário 2-4 anos e 95,6% nos indivíduos acima dos 65 anos (2).

As infeções pelo CMV são na sua maioria assintomáticas. As manifestações de doença dependem da idade da aquisição da infeção e das alterações do estado imunitário dos indivíduos e apresentam um quadro clínico que pode ser ligeiro e autolimitado ou dar origem a complicações graves e até mesmo fatais.

O CMV é um vírus neurotrópico associado muitas vezes a complicações neurológicas graves, em particular nos doentes imunocomprometidos, uma vez que a terapêutica imunossupressora facilita o aparecimento de infeções oportunistas, predispondo a uma infeção primária ou à reativação do vírus latente (3).

O diagnóstico baseado no quadro clínico é dificultado pelo facto de outros agentes biológicos poderem estar também implicados na etiologia das infeções do sistema nervoso central (SNC), pelo que deve considerar-se, como complemento, o diagnóstico laboratorial e/ou imagiológico.

O diagnóstico laboratorial de eleição para pesquisa do CMV no líquido céfalo-raquidiano (LCR) é o PCR em tempo real, uma vez que

é um método molecular que apresenta um intervalo linear alargado, um limite de deteção e quantificação de pequeno número de cópias do amplificado e um risco reduzido de contaminação, pelo facto dos processos de amplificação e deteção serem efetuados em sistema fechado (4).

A análise quantitativa da carga viral do CMV por PCR em tempo real tem contribuído para a melhoria do diagnóstico de infeção ativa e para o seu tratamento, permitindo monitorizar a resposta à terapêutica e, conseqüentemente, determinar a sua efetividade, particularmente nas infeções do sistema nervoso central (5, 6).

_Objetivos

Este estudo tem como objetivo descrever as características demográficas e o quadro clínico e imunitário de doentes com suspeita de infeção viral neurotrópica e analisar a frequência das infeções por CMV nas patologias do SNC, cujo diagnóstico foi confirmado no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2010 e abril de 2014.

_Material e métodos

Foi realizada uma análise retrospectiva das amostras de LCR de 1790 doentes com suspeita de infeção viral no SNC, recebidas no Departamento de Doenças Infecciosas do INSA, entre janeiro de 2010 e abril de 2014, para pesquisa e quantificação de DNA do CMV por PCR em tempo real.

A extração do DNA foi efetuada em equipamento automatizado de extração de ácidos nucleicos (*Nuclisens EasyMag – Biomerieux*) e a amplificação, deteção e quantificação do DNA do CMV foi realizada utilizando um dispositivo comercial de PCR em tempo real, que amplifica uma região do exão 4 do gene imediatamente precoce (MIE) HCMVUL123 (*Q-CMV RT Kit, ELITEch Group*). A técnica inclui também um controlo interno de inibição, com *primers* específicos para a região promotora e região 5'UTR do gene da beta globina humana. O PCR em tempo real foi efetuado na plataforma de amplificação ABI PRISM 7500 (*Applied Biosystem*). Os resultados positivos foram quantificados em cópias/ml, tendo em consideração o volume de amostra extraída, o volume final de eluição e o volume de DNA utilizado na reação de amplificação.

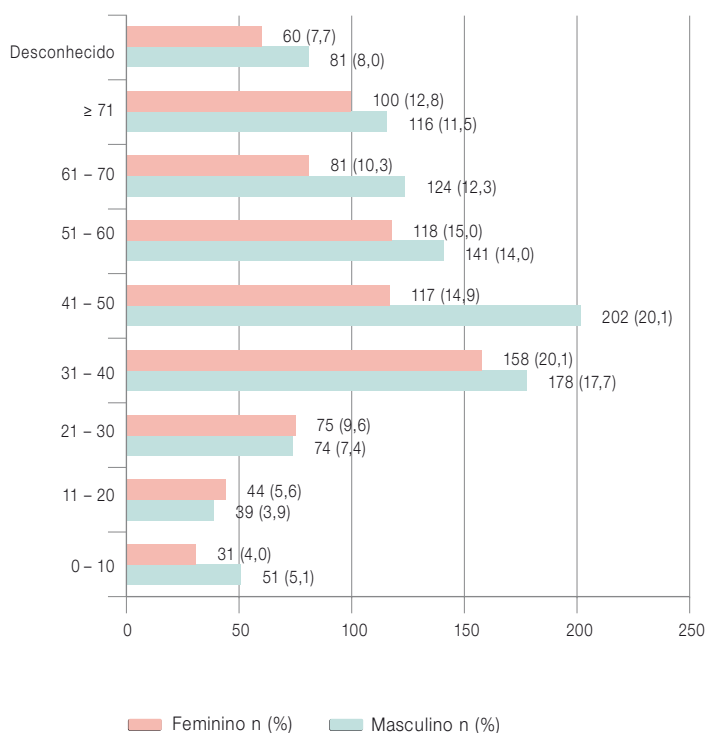
artigos breves_ n. 4

Para a análise descritiva dos dados demográficos dos casos suspeitos e confirmados, recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativa. Para comparar a frequência de distribuição da infeção por CMV e o estado imunitário, aplicou-se o teste exato de Fisher. Para todos os testes estatísticos foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados

Dos 1790 doentes suspeitos de infeção viral no SNC, 1006 (56,2%) pertenciam ao género masculino e 784 casos (43,8%) ao género feminino. A idade destes doentes variou entre os 29 dias de vida e os 85 anos, sendo a mediana de 46 anos. No gráfico 1 apresenta-se a distribuição dos 1790 casos suspeitos de infeção neurotrópica por género e grupo etário.

Gráfico 1: Distribuição dos 1790 casos suspeitos de infeção viral neurotrópica por género e grupo etário, 2010-2014.*



* janeiro 2010 - abril 2014

Foi possível conhecer o estado imunitário em 1758 dos doentes em análise, dos quais 1215 (69,1%) eram imunocompetentes e 543 (30,9%) imunocomprometidos. Na tabela 1 consta a distribuição do quadro clínico, sinais e/ou sintomas que levaram à suspeita de infeção viral neurotrópica dos 1758 doentes cujo estado imunitário foi conhecido.

Tabela 1: Distribuição dos 1758 casos suspeitos de infeção viral neurotrópica em função do quadro clínico, sinais/sintomas de doença e estado imunitário, 2010-2014.*

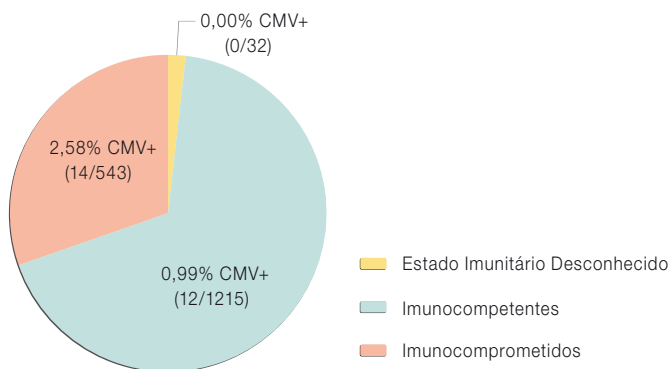
Quadro clínico, Sinais / Sintomas de doença	Indivíduos Imunocompetentes n = 1215	Indivíduos imunocomprometidos n = 543
Suspeita de infeção viral neurotrópica	170	103
Lesão ocupando espaço (LOE)	42	65
Patologias inespecíficas do Sistema Nervoso Central	18	10
Síndrome demencial / Alteração de comportamento	88	84
Ataxia	17	7
Convulsões / Epilepsia	30	12
Encefalite / Meningite / Meningoencefalite	352	111
Mielite / Encefalomielite	71	9
Esclerose múltipla	38	3
Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP)	4	29
Nevrite ótica	37	0
Síndrome de Guillain-Barré	19	0
Neuropatia / Polineuropatia	45	15
Doença desmielinizante	49	4
Vasculopatia	11	2
Paralisia Facial	14	2
Paraparesia / Tetraparesia	47	6
Diplopia / Afasia	14	1
Síndrome febril indeterminado	84	45
Cefaleias / Prostração	36	21
Infeção respiratória + febre / Pneumonia	7	5
Tumor / Linfoma	1	4
Acidente vascular cerebral	18	3
Coma	3	2
Total	1215	543

* janeiro 2010 - abril 2014

artigos breves_ n. 4

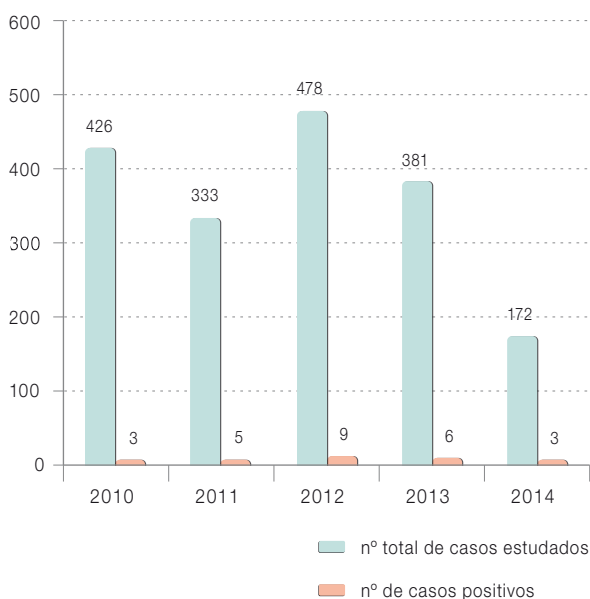
Dos 1790 doentes estudados entre janeiro de 2010 e abril de 2014, 26 (1,5%) foram confirmados como casos positivos de infeção por CMV por PCR em tempo real (gráficos 2 e 3). Dos 1764 doentes suspeitos em que a pesquisa de DNA do CMV foi negativa, 139 (7,9%) foram positivos para outros vírus neurotrópicos (vírus herpes simplex do tipo 1, vírus herpes simplex do tipo 2, vírus varicela-zoster, vírus Epstein Barr, vírus herpes humano tipo 6, vírus herpes humano tipo 7, parvovírus B19, enterovirus, adenovirus e vírus JC).

Gráfico 2: Distribuição dos 1790 casos suspeitos de infeção viral neurotrópica por infeção CMV e estado imunitário, 2010-2014.*



* janeiro 2010 - abril 2014

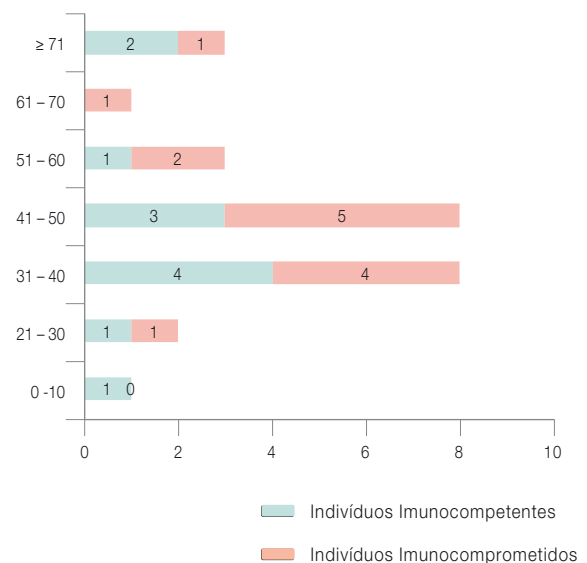
Gráfico 3: Distribuição dos casos de infeção por CMV por ano de diagnóstico, 2010-2014.*



* janeiro 2010 - abril 2014

Em relação ao estado imunitário e idade dos casos positivos para CMV, 14 (53,8%) eram indivíduos imunocomprometidos com idades compreendidas entre os 30 e os 72 anos e 12 (46,2%) eram indivíduos imunocompetentes entre os 27 e os 81 anos, à exceção de um caso ocorrido numa criança imunocompetente, com 1 ano de idade (gráfico 4).

Gráfico 4: Distribuição dos 26 casos de infeção por CMV por grupo etário e estado imunitário, 2010-2014.*



* janeiro 2010 - abril 2014

Quanto à distribuição dos casos de infeção por CMV em função do quadro clínico, sinais/sintomas, observaram-se 15 casos com alterações de comportamento associadas a alterações imagiológicas (6 casos), síndrome febril (6 casos) e convulsões (3 casos); encefalite (5 casos), meningite (2 casos), imunossupressão grave com síndrome febril (2 casos), epilepsia (1 caso) e coma (1 caso) (tabela 2).

Os valores de carga viral do CMV variaram entre 28 e 470 cópias/ml em doentes imunocompetentes e entre 57 e 4965 cópias/ml em indivíduos imunocomprometidos.



Tabela 2: ↓ Distribuição dos 26 casos de infeção por CMV em função do quadro clínico, sinais/sintomas de doença e estado imunitário, 2010-2014.*

Quadro clínico, Sinais / Sintomas de doença	Estado Imunitário n=26	
	Indivíduos Imunocompetentes n = 12	Indivíduos imunocomprometidos n = 14
LOE + Alteração de comportamento	2	4
Febre + Alteração de comportamento	3	3
Convulsões + Alteração de comportamento	2	1
Encefalite	3	2
Meningite	1	1
Imunossupressão grave + febre	0	2
Epilepsia	1	0
Coma	0	1

* janeiro 2010 - abril 2014

p (teste exato de Fisher) = 0.0107

Discussão e conclusões

Dos 1790 indivíduos com suspeita de infeção viral neurotrópica, observou-se que o diagnóstico de encefalite, meningite, meningoencefalite, convulsões, alterações de comportamento e síndrome febril indeterminado foram os quadros clínicos, sinais/sintomas mais frequentes quer nos indivíduos imunocompetentes, quer nos imunocomprometidos. No entanto, e com menor frequência, a suspeita de infeção no SNC encontrou-se também relacionada com manifestações variadas, de acordo com o descrito na **tabela 1**.

Os resultados confirmaram 26 (1,5%) casos de infeção por CMV nos 1790 doentes estudados, entre janeiro de 2010 e abril de 2014. As alterações de comportamento associadas a alterações imagiológicas, síndrome febril, convulsões e encefalites foram as patologias predominantes nos casos positivos para CMV, apesar das patologias que ocorreram com menor frequência também estarem descritas na literatura (1,7).

Neste estudo encontrou-se uma diferença significativa entre a frequência de infeção por CMV no SNC e o estado imunitário dos indivíduos, com maior frequência de infeções por CMV nos indivíduos imunocomprometidos ($p=0.0107$) (**gráfico 2**). O CMV é considerado um dos mais importantes vírus oportunistas em indivíduos imu-

nocomprometidos, uma vez que o sistema homeostático sofre de-sequilíbrios que conduzem à imunossupressão, favorecendo assim a replicação viral.

Neste estudo foram encontrados valores de carga viral do CMV mais elevados nos indivíduos imunocomprometidos, nomeadamente valores superiores a 1000 cópias/ml nos indivíduos com imunossupressão grave (contagem de linfócitos CD4+ com valores inferiores a 100 células/mm³) logo, com um risco acrescido do aparecimento de co-infeções e doença. Este facto alerta para a importância da análise sistemática dos valores de carga viral para avaliar a gravidade da doença e monitorizar a terapêutica antiviral (4).

Desde a introdução da terapêutica anti-retroviral HAART nos indivíduos infetados pelo vírus VIH, que permite restabelecer os linfócitos CD4+, tem havido uma redução da incidência de infeção oportunista por CMV nestes indivíduos e um controle mais eficaz da progressão da doença. No entanto, e apesar das infeções pelo CMV no SNC continuarem associadas a infeções oportunistas nos indivíduos imunocomprometidos, a literatura refere a possibilidade da infeção por CMV no SNC estar subestimada nos indivíduos imunocompetentes (8).

Tendo em conta que a infeção pelo CMV no SNC manifesta-se frequentemente por patologias não específicas que podem estar associadas a infeções causadas por outros vírus, é necessário garantir a validade do diagnóstico laboratorial. Neste sentido, o PCR em tempo real no LCR é o método molecular preferencial, quer pela sua elevada sensibilidade e especificidade, quer pelo risco reduzido de contaminação e capacidade de quantificação da carga viral (1,4,8).

A deteção e quantificação por PCR em tempo real no LCR sugerem uma infeção ativa pelo CMV, contribuindo substancialmente para o diagnóstico e consequente tratamento das infeções do SNC. No entanto, os resultados positivos deverão ser interpretados de acordo com o contexto individual de cada doente, em especial nos casos de baixa carga viral por CMV, como responsável de patologia neurotrópica (4,5,8). Contudo, saliente-se que as metodologias quantitativas de PCR em tempo real específicas para um vírus, são



artigos breves_ n. 4

desenhadas de forma a amplificar zonas altamente conservadas, não permitindo reação cruzada com outros vírus, pelo que, um resultado positivo para CMV, mesmo com baixa carga viral, reflete infeção ou reativação por este vírus (4).

Agradecimento

Os autores agradecem à dra. Zilda Mendes pela revisão estatística do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) Griffiths P. Cytomegalovirus infection of the central nervous system. *Herpes*. 2004;11(Suppl 2):95A-104A.
- (2) Lopo S, Vinagre E, Palminha P. Vírus Citomegalo. In: Direção-Geral da Saúde. Avaliação do Programa Nacional de Vacinação. 2º Inquérito Serológico Nacional – Portugal Continental 2001/2002. Lisboa: DGS, 2004. pp.101-11. [LINK](#)
- (3) Pass R. Cytomegalovirus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al. (eds). *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 2675-2705.
- (4) Gaeta A, Verzaro S, Cristina LM, et al. Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol*. 2009;32(4):333-40. [LINK](#)
- (5) Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis*. 2012; 54(12):1793-7. [LINK](#)
- (6) Whitley R. Herpesvirus Infections of the Central Nervous System. *Herpes*. 2004;11(2):47A-56A.
- (7) Quereda C, Corral I, Laguna F, et al. Diagnostic utility of a multiplex herpesvirus PCR assay performed with cerebrospinal fluid from human immunodeficiency virus-infected patients with neurological disorders. *J Clin Microbiol*. 2000;38(8):3061-7. [LINK](#)
- (8) Mendoza LP, Bronzoni RV, Takayanagui OM, et al. Viral infections of the central nervous system in Brazil. *J Infect*. 2007;54(6):589-96.