

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA

CARLA BERTOLINI FRIGORI

Infecção congênita pelo Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6):  
determinação da prevalência pela detecção do DNA viral

Ribeirão Preto  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CARLA BERTOLINI FRIGORI

Infecção congênita pelo Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6):  
determinação da prevalência pela detecção do DNA viral

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de  
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.  
Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.  
Opção: Investigação em Saúde da Criança e do Adolescente.  
Orientadora: Dr<sup>a</sup> Aparecida Yulie Yamamoto

Ribeirão Preto  
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

#### Catálogo na Publicação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Frigori, Carla Bertolini

Infecção congênita pelo Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6): determinação da prevalência pela detecção do DNA viral. Ribeirão Preto, 2010.

61 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente - Opção: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Yamamoto, Aparecida Yulie.

1. HHV-6. 2. Infecção congênita. 3. Recém-nascido. 4. Saliva. 5. Sangue capilar.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Carla Bertolini Frigori

Infecção congênita pelo Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6): determinação da prevalência pela detecção do DNA viral.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.  
Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.  
Opção: Investigação em Saúde da Criança e do Adolescente.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Victor Hugo Aquino

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Salim Moysés Jorge

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Assinatura: \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Aparecida Yulie Yamamoto

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico aos meus pais, Emílio Frigori e Claudia Bertolini Frigori, que com extrema dedicação e carinho sempre estiveram ao meu lado, me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de vitória.*

*Ao meu noivo Olavo, pelo amor, compreensão, carinho e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.*

*Ao meu irmão, Prof. Rafael Bertolini Frigori, o qual sempre me inspirou a dar este grande passo.*

*Agradeço em especial à minha orientadora, prof. Dra. Aparecida Yulie Yamamoto, pelos grandiosos ensinamentos, convivência, amizade e principalmente pela oportunidade de crescimento, aprendizado contínuo, realização profissional e pessoal e confiança em mim depositada.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me amparar nos momentos de dificuldade, me mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Ao Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo, que muito contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Léa Maria Zanini Maciel, cujo auxílio foi valioso para a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Salim Moysés Jorge e Prof. Dr. Victor Hugo Aquino, membros participantes da banca, pela disponibilidade na participação desta e pelas sugestões, que muito contribuíram na redação final desta dissertação.

À Camila dos Santos Alvim e Aline Rafaela Silva Rodrigues, pelo auxílio na coleta, organização de amostras, pela dedicação e amizade.

Às colegas e amigas de laboratório, Maria Sol, Regina, Andrea, Patrícia, Virgínia, Cléo, Lúcia, Carol e Alessandra, pelo auxílio na realização dos testes laboratoriais, pelo companheirismo, amizade e apoio.

Às funcionárias do Laboratório de Triagem Neonatal do HCFMRP-USP, em especial a Andrea Pimentel Alvim, que colaboraram na familiarização com a manipulação das amostras de papel filtro e na busca de crianças.

À todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da FMRP-USP, pelo aprendizado e convívio.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, em especial a secretária Sandra Eugenio Oliveira, pela constante dedicação, atenção e gentileza.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro para realização deste trabalho.



## RESUMO

FRIGORI, C.B. **Infecção congênita pelo Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6): determinação da prevalência pela detecção do DNA viral.** 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

O Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6) pertence à subfamília *Betaherpesvirinae*, a mesma do citomegalovírus (CMV), que é considerado o agente causal mais freqüente de infecção congênita no homem. Pouco é conhecido sobre a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6, especialmente no Brasil. Também ainda não está bem estabelecido se a infecção congênita por este vírus é causa de doença no período neonatal e se cursa com alguma seqüela futura como a surdez neurossensorial, a exemplo do CMV. Ainda, dados sobre excreção do HHV-6 na saliva e na urina de crianças com infecção congênita permitiria conhecer se a replicação deste vírus é prolongada como ocorre em crianças infectadas congenitamente pelo CMV. Os objetivos deste estudo consistiram em estimar a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6 em recém-nascidos (RN) atendidos no HCFMRP-USP, descrever as características clínicas ao nascimento das crianças identificadas como infectadas e verificar a persistência da excreção do HHV-6 na saliva e na urina durante o seguimento. Delineou-se um estudo descritivo de prevalência através de uma triagem neonatal desta infecção. Foram incluídos recém-nascidos atendidos no HCFMRP-USP, a termos ou pretermos, nascidos consecutivamente e com quaisquer características clínicas ao nascer, após a obtenção do consentimento informado materno. A infecção congênita pelo HHV-6 foi definida pela detecção do DNA viral na saliva e no sangue capilar pela reação em cadeia da polimerase (PCR) na primeira semana de vida. Amostras seqüenciais de urina e saliva foram coletadas das crianças infectadas congenitamente pelo HHV-6 durante o seguimento para verificação da persistência da excreção viral nestes sítios. Dos 1127 recém-nascidos incluídos no estudo, foram processadas 2254 amostras de saliva, sendo obtidas duas amostras de saliva de cada RN ao nascimento. Do total dos 1127 RN, 927 (82,25%) tiveram também uma amostra de sangue capilar processada para detecção do DNA do HHV-6. A detecção do DNA do HHV-6 foi observada na saliva e no sangue capilar em 6 recém nascidos; portanto, a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6 foi de 0,53% (IC de 95%: 0,21-1,10). Com exceção de uma criança, todas as crianças identificadas como portadoras da infecção congênita pelo HHV-6 eram assintomáticas ao nascimento. A virúria não foi observada em 33% destas crianças. A persistência da excreção do HHV-6 na urina e na saliva destas crianças ocorreu até a mediana da idade de seguimento de 5,5 meses (com variação de 5 a 9 meses). A prevalência de infecção congênita pelo HHV-6 não diferiu das relatadas em estudos prévios em diferentes populações de outros países e é similar à taxa de prevalência de 1% de infecção congênita pelo CMV em nosso meio. A maioria destas crianças infectadas congenitamente não apresentou sinais clínicos ao nascer. A replicação deste vírus nestas crianças é prolongada, a exemplo do que ocorre com as crianças infectadas congenitamente pelo CMV.

Palavras chave: HHV-6, infecção congênita, recém-nascido, saliva, sangue capilar.

## ABSTRACT

FRIGORI, C.B. **Congenital human Herpesvirus type 6 (HHV-6) infection: determination of the prevalence by viral DNA detection.** 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Human herpesvirus 6 (HHV-6) and human cytomegalovirus (HCMV) are Betaherpesvirus. Although HCMV infection has been recognized as a leading cause of congenital infection, there is no available data for congenital HHV-6 in Brazil. In addition, it is not known if infants with congenital HHV6 infection can be symptomatic at birth or if this infection is a cause of late abnormalities such as hearing loss as congenital CMV infection. While infants with congenital CMV infection shed the virus in urine and saliva continuously for years, there is no available data for HHV-6. The objectives of this study were to verify the birth prevalence of congenital HHV-6 infection, to describe the clinical findings in congenitally infected infants and to verify the persistence of viral detection during follow-up. After obtaining written informed consent from mothers, infants consecutively born were screened for HHV-6 in saliva samples collected during the first week of life. Congenital HHV-6 was defined by detection of virus DNA in saliva and in dried blood specimens using a polymerase chain reaction (PCR). Urine samples were collected from all infants with HHV-6 DNA in saliva. Subsequent saliva and urine samples were collected monthly during follow-up from infected infants. Saliva samples obtained from 1127 infants were tested for HHV6 DNA by PCR. Among these infants, 927 (82.2 %) had dried blood samples available for testing by PCR. Congenital HHV-6 infection were defined in 6 of 1127 neonates enrolled in the study (prevalence= 0.21%; CI 95%: 0.21-1.10). All infants but one were asymptomatic at birth. Virus was detected in sequential urine and saliva samples obtained from these 6 infants from birth to median age of 5.5 months; range= 5 to 9 months. The birth prevalence of congenital HHV-6 infection seems to be similar to congenital CMV infection. Congenitally HHV-6 infected infants shed the virus in saliva and urine at birth and virus excretion in these body fluids is prolonged as observed in congenital CMV infection.

Key words: HHV-6, congenital infection, infants, saliva, dried blood.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Ciclo replicativo do HHV-6.....19
- Figura 2- Gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio, mostrando as bandas do produto amplificado de 232 pb correspondentes às amostras de sangue capilar, urina e saliva de crianças identificadas com infecção congênita pelo HHV-6.....32
- Figura 3- Distribuição dos recém-nascidos segundo o sítio de excreção viral (saliva e ou sangue capilar) analisados e proporção de infectados e não infectados congenitamente pelo HHV-6.....35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características dos seis recém-nascidos identificados com infecção congênita pelo HHV6.....	37
Tabela 2- Detecção do DNA do HHV-6 ao nascimento em dois sítios corporais distintos das seis crianças identificadas com infecção congênita pelo HHV-6.....	39
Tabela 3- Detecção do DNA do HHV-6 na saliva e na urina de crianças com infecção congênita pelo HHV-6, durante o período de seguimento.....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIG	adequado para idade gestacional
CI-HHV6	integração cromossômica do HHV-6
CMV	citomegalovírus
C+	controle positivo
C-	controle negativo
DR	genes de repetição terminal
E	precoce
FISH	ensaio de hibridação <i>in situ</i> revelado por imunofluorescência
FMRP-USP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HHV-6	herpesvírus humano tipo 6
HIV	vírus da imunodeficiência humana
IC 95%	intervalo de confiança de 95%
IE	precoce imediata
IgG	imunoglobulina de classe G
IgM	imunoglobulina de classe M
Kb	kilobases
L	tardia
M	marcador de peso molecular
NCI	não completou idade

Neg	negativo
NK	células naturais killer
NO	amostra não obtida
ORFs	seqüências de leitura aberta
pb	pares de bases
PBMC	células mononucleares sanguíneas periféricas
PC	perímetro cefálico
PCR	reação em cadeia da polimerase
PIG	pequeno para idade gestacional
Pos	positivo
RN	recém-nascido
rpm	rotações por minuto
RT-PCR	transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase
S	saliva
Sem	semana
Sg	sangue
SUS	Sistema Único de Saúde
U	urina

## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	16
1- Histórico.....	16
2- Características do vírus.....	17
3- Replicação viral.....	18
4- Epidemiologia da infecção pelo HHV-6.....	20
5- Patogênese.....	21
6- Tropismo celular.....	22
7- Infecção Primária.....	22
8- Transmissão vertical do HHV-6.....	23
2- JUSTIFICATIVAS DO ESTUDO E PRESSUPOSTOS.....	25
3- OBJETIVOS.....	26
4- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	27
1- População de estudo.....	27
2- Critérios de definição de infecção congênita pelo HHV-6.....	28
3- Aspectos éticos.....	29
4- Métodos laboratoriais.....	30
4.1- Coleta das amostras.....	30
4.2- Preparo das amostras.....	30
4.3- Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	31
5- Análise estatística .....	33
5- RESULTADOS.....	34

1 - Características demográficas da população estudada.....	34
2 - Estimativa da prevalência ao nascimento da infecção congênita pelo HHV-6, nos recém-nascidos atendidos no HCFMRP-USP.....	34
3 - Características clínicas e demográficas ao nascimento das crianças com infecção congênita por HHV-6.....	36
4 - Detecção do DNA do HHV-6 ao nascimento em dois sítios corporais.....	38
5 - Persistência da excreção do HHV-6 na saliva e na urina das seis crianças infectadas.....	39
6- DISCUSSÃO.....	41
7- CONCLUSÕES.....	50
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXOS.....	60



## 1 - INTRODUÇÃO

### 1 - Histórico

O Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6) foi isolado pela primeira vez em 1986, a partir de células mononucleares de sangue periférico de pacientes adultos com doenças linfoproliferativas (SALAHUDDIN et al., 1986). Inicialmente foi denominado de vírus linfotrópico-B humano, mas atualmente é conhecido que o processo de replicação deste vírus ocorre principalmente na linhagem de células dos linfócitos T (GRIVEL et al., 2003; TAKAHASHI et al., 1989).

O estudo pioneiro sobre a ocorrência de infecção pelo HHV-6 no Brasil foi realizado por Linhares et al. (1991), que observaram uma taxa de soroprevalência a este vírus de 76,5% e 77,2%, em uma população de brasileiros e imigrantes japoneses, respectivamente, na cidade de Recife, no Estado de Pernambuco. Posteriormente, outros estudos soroepidemiológicos realizados na região Amazônica, encontraram taxas de soroprevalência ao HHV-6 de 5,4% a 15%, em quatro comunidades indígenas (FREITAS; LINHARES, M.; LINHARES, A., 1994), e de 75% a 100% em duas comunidades urbanas próximas à cidade de Belém (FREITAS; LINHARES, 1997).

Adicionalmente, os primeiros relatos no Brasil mostrando a associação da infecção pelo HHV-6 e a doença conhecida como exantema súbito foram realizados por Freitas et al. (1995), que analisaram amostras séricas de 4 crianças com idade entre 10 a 24 meses, com quadro exantemático, na cidade de Belém, estado do Pará. Posteriormente, Black et al. (1996), analisaram amostras de soro de crianças com diagnóstico clínico de sarampo ou rubéola, residentes na cidade de São Paulo, e identificaram que 20% destas crianças eram soropositivas para HHV-6. Todas eram crianças com idade inferior a 5 anos e 41% eram lactentes jovens com idade entre 3 a 23 meses.

Mais recentemente, Freitas, Monteiro e Linhares (2000), demonstraram evidências de que o HHV-6 era uma causa comum de surtos de doenças febril-exantemáticas em crianças que freqüentavam creches da área urbana da cidade de Belém. Em 2004, Pereira et al. detectaram a presença do DNA do HHV-6 na saliva e no sangue de grande parte da população de indivíduos adultos saudáveis e doadores de sangue da região da cidade de Campinas, no Estado de São Paulo.

## 2 - Características do vírus

O Herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6) pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Betaherpesvirinae*, gênero *Roseolovirus* (PELLET; DOMINGUEZ, 2001; YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007). A principal característica desta família é a capacidade de estabelecer latência ou persistência viral após a ocorrência de infecção primária e reativar-se com ou sem manifestação da doença (PELLET; DOMINGUEZ, 2001).

As características estruturais dos HHV-6 são semelhantes aos de outros membros do grupo herpesvírus, consistindo de um nucleocapsídeo de simetria icosaédrica com diâmetro de 90 a 110nm, que contém o genoma do DNA viral; um tegumento que consiste de uma camada amorfa de proteínas entre o nucleocapsídeo e o envelope viral e o envelope, constituído de uma bicamada lipídica com glicoproteínas virais específicas inseridas em sua superfície. O genoma viral é constituído de uma dupla fita de DNA linear, com cerca de 145 a 170 kilobases (Kb), sendo que aproximadamente 144 kb constituem o segmento central único (U1 a U100) com 119 sequências de leitura aberta (ORFs), flanqueado por estruturas repetidas diretas à direita ( $DR_R$ ) e à esquerda ( $DR_L$ ). A partícula viral completa possui 160 a 200nm de diâmetro (DE BOLLE et al., 2005; YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007).

Este vírus é classificado em duas variantes, denominadas como HHV-6A e HHV-6B, que são estreitamente relacionadas, mas diferem nos aspectos moleculares

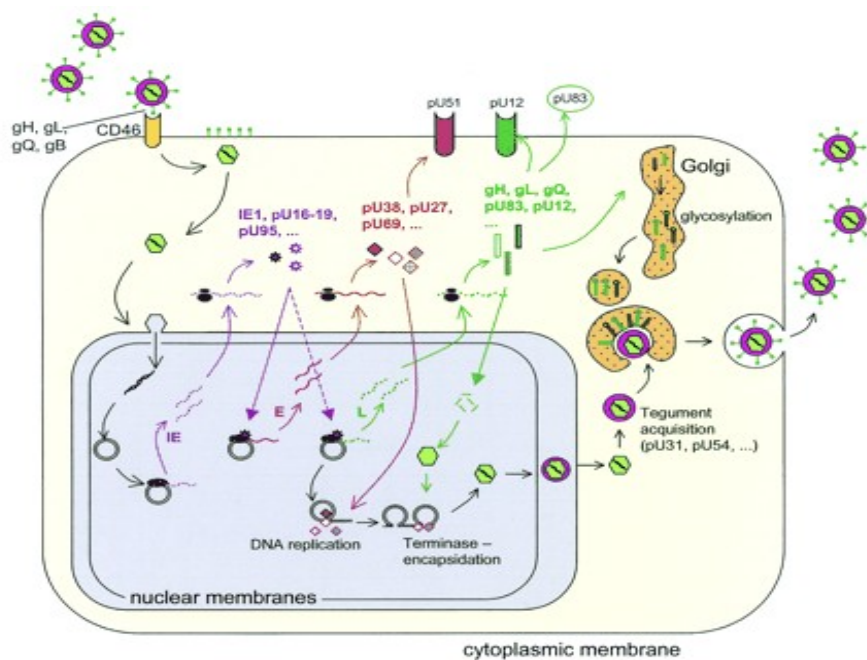
e biológicos quanto ao tropismo celular, seqüência nucleotídica do genoma viral bem como nos mecanismos patogênicos (DOMINGUEZ et al., 1999; HALL et al., 1998; YAMANISHI; MORI; PELLETT, 2007). As duas variantes A e B do HHV-6 exibem uma identidade de 90% na sua seqüência nucleotídica total, sendo a região de maior variabilidade localizada entre os genes U86 ao U100, com 72% de identidade (DOMINGUEZ et al.,1999). Com relação ao tropismo celular, as duas variantes se diferenciam pela persistência em diferentes sítios corporais, como mostra o estudo realizado por Hall et al. (1998) em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) e em fluido cerebrospinal (CSF) de crianças com infecção primária pelo HHV-6. O DNA do HHV-6 A foi detectado em 2,5% das amostras de células mononucleares, enquanto que 99% foram positivas para o HHV-6B (algumas foram positivas para ambos). De maneira similar, em amostras de fluido cerebrospinal, 17% foram positivas para o HHV-6A e 86% para o HHV-6B (algumas foram positivas para ambos). Embora o HHV-6B tenha sido detectado mais freqüentemente no líquido do que o HHV-6A, a proporção da detecção da variante A para a B foi maior no líquido quando comparado à detecção nas células mononucleares, sugerindo um neurotropismo relativamente maior do HHV-6A (HALL et al., 1998). Ainda com relação às diferenças entre as duas variantes, o HHV-6B é reconhecido como agente causal de uma doença exantemática em crianças jovens, conhecida como exantema súbito ou roséola infantil (YAMANISHI et al., 1988), enquanto que o HHV-6A não tem sido associado até o momento a nenhuma doença específica (YAMANISHI; MORI; PELLETT, 2007).

### **3 - Replicação viral**

No ciclo replicativo do HHV-6, como mostrado na Figura 1, a entrada do vírus nas células permissivas ocorre pela interação com receptores CD46 (SANTORO et al., 1999), que estão presentes na membrana de todas as células humanas nucleadas, tendo papel na regulação do complemento (LISZEWSKI; POST;

ATKINSON, 1991). O complexo de glicoproteínas H, L e Q, codificadas respectivamente pelos genes U48, U82 e U100, presente no envelope viral tem papel na ligação do HHV-6 com as moléculas CD46 humano (MORI et al., 2003).

A fusão do envelope viral com a membrana celular permite a liberação do nucleocapsídeo viral no citoplasma da célula hospedeira, onde, associado à rede de microtúbulos, o capsídeo sem o envelope é translocado até o núcleo da célula (PENFOLD; ARMATI; CUNNINGHAM, 1994), onde ocorre a replicação viral. O ciclo replicativo do HHV-6 envolve a expressão sequencial de três conjuntos de proteínas virais, sendo estas as proteínas precoces imediatas (IE) ou de fase  $\alpha$ , precoces (E) ou de fase  $\beta$ , e tardias (L) ou de fase  $\gamma$ . Na fase  $\alpha$ , as proteínas IE do HHV-6 são sintetizadas poucas horas após a infecção e regulam a expressão de outras proteínas, sendo responsáveis pela ativação dos genes das fases precoce (E) e tardia (L) da infecção. A fase  $\beta$  ou precoce depende dos transcritos dos genes IE para o início da replicação do DNA do HHV-6, bem como a síntese de proteínas estruturais do tegumento e de proteínas envolvidas na evasão do sistema imunológico. Na fase  $\gamma$ , ocorre a síntese das proteínas tardias que são glicosiladas e atuam como componentes das partículas virais maduras (DE BOLLE; NAENSES; DE CLERCQ, 2005). O tempo total do início da infecção à liberação dos novos *virions* é de aproximadamente 72 horas (BLACK et al., 1989).



**Figura 1:** Ciclo replicativo do HHV-6 (DE BOLLE et al., 2005).

#### **4 - Epidemiologia da infecção pelo HHV-6**

Apesar do HHV-6 ser um vírus ubíquo, ocorrendo precocemente na infância, as suas formas de transmissão ainda não são completamente conhecidas (YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007). O vírus é freqüentemente encontrado na saliva (COLLOT et al., 2002; DI LUCA et al., 1995; SUGA et al., 1998; ZHAO et al., 1997), sugerindo que as glândulas salivares são potenciais sítios de replicação e persistência do HHV-6 e que a saliva é uma fonte importante de transmissão do vírus para indivíduos susceptíveis, especialmente na infância (YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007).

A exemplo do citomegalovírus (CMV), o HHV-6 é amplamente difundido em diferentes regiões geográficas no mundo todo, com soroprevalência variando entre 70 e 100% (CHUA; KHAIRULLAH; HOOL, 1996; FREITAS; LINHARES, 1997; OHASHI et al., 2002; WU; MU; WANG, 1997). Geralmente, a infecção primária por este vírus ocorre durante a infância e é adquirida entre 6 e 15 meses de idade (FREITAS et al., 1995; FREITAS; LINHARES, 1997). Diferentes estudos epidemiológicos têm mostrado que cerca de 75% a 90% das crianças já são soropositivas a este vírus no primeiro ano de vida e que quase todas as crianças já tiveram contato com este vírus aos dois anos de idade, atingindo uma soroprevalência de 95% a 100% em adultos para qualquer uma das variantes do HHV-6 (FREITAS et al., 1995; FREITAS; LINHARES, 1997; ZERR et al., 2005).

Em estudo realizado no Japão, cerca de 60% das crianças que tiveram infecção primária pelo HHV-6 desenvolveram o quadro clínico sugestivo de exantema súbito típico (KUSUHARA et al., 1992). Em contraste, 70% das primoinfecções ocorridas entre crianças nos Estados Unidos e em países europeus foram caracterizadas por doença febril leve, cursando com ou sem manifestação exantemática (PORTOLANI et al., 1993; PRUKSANANONDA et al., 1992).

A transmissão nosocomial ou iatrogênica do vírus também tem sido relatada, uma vez que o HHV-6 permanece latente nas células da linhagem mielóide

e o vírus pode ser transmitido através do transplante de órgãos ou transfusões sanguíneas (YOSHIKAWA et al., 1998).

## 5 - Patogênese

A infecção primária pelo HHV-6 tem início com a replicação do vírus na mucosa epitelial da cavidade oral após o contato direto com saliva previamente infectada. Esta infecção é caracterizada por febre alta (39-40°C) que pode ser seguida por erupção maculopapular da pele, conhecida como roséola infantil ou exantema súbito (YAMANISHI et al., 1988), uma doença comum da infância, que se resolve espontaneamente. Durante a fase febril do exantema súbito, o vírus é isolado freqüentemente das células mononucleares do sangue periférico e ocasionalmente do plasma (ASANO et al., 1991). Após a infecção primária, o vírus se dissemina para vários órgãos como linfonodos, glândulas salivares e cérebro, medula óssea, fígado, rins e pulmão. Nas crianças e adultos saudáveis, o HHV-6 replica nas glândulas salivares, sendo, conseqüentemente, excretado na saliva por períodos prolongados, sem induzir alteração local. Após a infecção primária, o vírus permanece latente nos linfócitos e monócitos e persiste em vários tecidos e células (CAMPADELLI-FIUME; MIRANDOLA; MENOTTI, 1999). A reativação ou reinfecção pelo HHV-6 pode ocorrer em mulheres gestantes e em indivíduos que foram submetidos à imunossupressão terapêutica após transplante de órgãos, sendo o HHV-6 uma das causas principais de infecções virais oportunistas nesses pacientes imunocomprometidos, podendo ocasionar rejeição de órgãos transplantados, a exemplo do CMV (CAMPADELLI-FIUME; MIRANDOLA; MENOTTI, 1999).

## 6 - Tropismo celular

Embora a designação inicial do herpesvirus humano-6 seja de vírus linfotrópico para células B humanas (SALAHUDDIN et al., 1986), ambos HHV-6A e HHV-6B replicam-se mais eficientemente *in vitro* em linfócitos T CD4+ (TAKAHASHI et al., 1989). Os linfócitos T CD4+ são preferencialmente infectados por ambas variantes, enquanto que as células T CD8+ são mais eficientemente infectadas pelo HHV-6A (GRIVEL et al., 2003). Contudo, o HHV-6 é capaz de infectar uma ampla variedade de tipos celulares, ambos *in vitro* e *in vivo*, provavelmente devido à ubiquidade natural do receptor CD46 (DE BOLLE; NAENSES; DE CLERCQ, 2005).

O HHV-6 infecta uma variedade de células humanas *in vitro*, tais como os linfócitos T (preferencialmente CD4+ maduro) e linfócitos B do sangue periférico; linhagem de células de linfócitos e macrófagos, incluindo células B e de linhagem de células T; células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC); células de megacariócitos e gioblastomas (YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007); fibroblastos (LUKA; OKANO; THIELE, 1990); células naturais killer (NK) (LUSSO et al., 1993); eritrócitos fetais primários (HE et al., 1996); oligodendrócitos (ALBRIGHT et al., 1998); células dendríticas (KAKIMOTO et al., 2002); células epiteliais (CHEN et al., 1994) e endoteliais (CARUSO et al., 2002).

## 7 - Infecção Primária

A infecção primária adquirida pós-natal pelo HHV-6 geralmente é caracterizada por uma doença febril aguda e auto-limitada em 3 a 7 dias. A febre, usualmente elevada, pode ocorrer em aproximadamente 10% das crianças com infecção primária por HHV-6, representando 10% a 20% de todas as visitas aos serviços de emergência pediátrica por crianças abaixo de dois anos de idade (ZERR

et al., 2005). Algumas crianças podem desenvolver exantema, sendo esta apresentação clínica da doença comumente conhecida como roséola infantil ou exantema súbito. A associação entre exantema súbito e infecção primária pelo HHV-6B, demonstrada pela soroconversão e isolamento do vírus, foi descoberta inicialmente por Yamanishi et al. (1988). Entretanto, complicações mais severas como meningo-encefalites têm sido relatadas, mas são mais raras (HALL et al., 1998). Em crianças imunocompetentes, as infecções pelo HHV-6 são autolimitadas e não requerem tratamento específico.

## **8 - Transmissão vertical do HHV-6**

Com relação à infecção congênita pelo HHV-6, o estudo pioneiro é o de Hall et al. (1994), que sugeriram, há 16 anos, que algumas infecções por este vírus identificadas no primeiro mês de vida em lactentes jovens poderiam ser atribuídas à transmissão vertical.

Diferenças clínicas e virológicas entre a infecção congênita e a infecção primária adquirida pós-natal pelo HHV-6 puderam ser observadas em estudo mais recente, realizado por Hall et al. (2004), onde foi verificado que um terço dos casos em que o DNA detectado em células mononucleares de cordão umbilical de crianças infectadas congenitamente era da variante A do vírus, enquanto que a infecção pós-natal é causada quase que exclusivamente pela variante B. Adicionalmente, a infecção congênita pelo HHV-6 tem sido descrita geralmente como assintomática, diferentemente do encontrado na infecção pós-natal (HALL et al., 2004). Esta característica pode ser atribuída ao fato de que a infecção congênita pelo HHV-6 ocorrer quase que exclusivamente na presença de imunidade materna prévia, conferindo proteção à doença congênita. Entretanto, existem relatos de casos sintomáticos de transmissão congênita do HHV6, com envolvimento sistêmico e neurológico ao nascimento (ASHSHI et al., 2000; LANARI et al., 2003).

A transmissão do HHV-6 durante a gestação da mãe para o feto pode



ocorrer pela reativação da infecção materna, como sugerido em um estudo em que o DNA do HHV-6 foi detectado em 41% de amostras de sangue de mulheres grávidas, obtidas durante o terceiro e o oitavo meses de gestação, e em 44% das amostras obtidas durante o quinto e o sexto meses de gestação, sendo estas taxas significativamente maiores do que o encontrado em um grupo de mulheres não gestantes (24%) (DAHL et al., 1999). A reativação do HHV-6 parece ser um evento comum durante a gravidez (YAMANISHI; MORII; PELLETT, 2007).

O segundo mecanismo de transmissão da mãe para o feto seria pela integração do vírus ao cromossoma humano. O HHV-6 é o único entre os herpesvírus humanos que apresenta esta capacidade de integração cromossomal (LEONG et al., 2007; TORELLI et al., 1995). Desta maneira, o HHV-6 pode ser transmitido ao recém-nascido pelo cromossoma de um dos pais ou pelo cromossoma de ambos (DAIBATA et al., 1999). A frequência com que a integração cromossômica do HHV-6 (CI-HHV6) está presente em indivíduos normais ainda não é clara, mas tem sido estimada que ocorra com frequência de 0,2% a 0,8% na população estudada no Japão e no Reino Unido (CLARK et al., 2006; LEONG et al., 2007; TANAKA-TAYA et al., 2004). Em 2008, Hall et al. realizaram estudo com 85 recém-nascidos infectados pelo HHV-6, e observaram que 43 RN apresentaram infecção congênita e 42 RN tiveram infecção pós-natal. A maior parte dos recém-nascidos com infecção congênita (86%) tinha evidências de integração cromossômica do HHV-6, sendo estes aqueles que apresentavam alta carga viral em todos os sítios (amostras de células mononucleares sangüíneas de cordão, células mononucleares de sangue periférico, saliva, urina e fios capilares). A variante A do vírus causou 32% da infecção pelo HHV-6 através da integração cromossômica, comparada com apenas 2% na infecção pós-natal. A replicação do HHV-6 foi detectada somente entre as amostras dos RN com integração cromossômica (8% das células mononucleares sangüíneas de cordão e células mononucleares de sangue periférico). Deste modo, a integração cromossômica do HHV-6 pode ser uma modalidade de transmissão vertical alternativa e talvez a principal da infecção congênita, sendo esta característica exclusiva do HHV-6 (HALL et al., 2008).

## 2 - JUSTIFICATIVAS DO ESTUDO E PRESSUPOSTOS

O Herpesvírus humano tipo 6 apresenta uma grande identidade com o citomegalovírus humano (CMV), o qual é considerado o agente causal mais freqüente de infecção congênita no homem. Pouco é conhecido sobre a incidência da infecção congênita pelo HHV6 em países em desenvolvimento como no Brasil e especialmente se esta infecção é causa de doença no período neonatal e se cursa com alguma seqüela futura, a exemplo do CMV. Pressupomos que a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6 seja alta e similar à taxa de prevalência de 1,08% descrita na infecção congênita pelo citomegalovírus na mesma população.

Apesar de alguns estudos relatarem que a infecção congênita pelo HHV-6 seja na sua grande maioria assintomática, existem relatos de casos de manifestações clínicas graves como hepatite neonatal e manifestações neurológicas graves em recém-nascidos. Embora a infecção congênita sintomática pelo HHV-6 pareça ser um evento raro, uma vez que praticamente todas as mulheres na idade fértil já tiveram contato com este vírus, existe a possibilidade de reinfecções maternas com diferentes cepas do HHV-6 como ocorre com o CMV. Desta maneira, existem muitas lacunas no conhecimento de características epidemiológicas e clínicas da infecção congênita pelo HHV-6. Um pouco deste conhecimento poderá ser adquirido pela estimativa da prevalência da infecção congênita por HHV-6, incluindo a determinação das taxas de infecção sintomática e assintomática nesta mesma população com alta taxa de prevalência de infecção congênita pelo CMV (YAMAMOTO et al., 2001). Ainda, dados sobre a excreção do HHV-6 na saliva e na urina de crianças com infecção congênita permitiria conhecer se a replicação deste vírus é prolongada como ocorre em crianças infectadas congenitamente pelo CMV.

### 3 - OBJETIVOS

Baseado nestes pressupostos, este estudo teve como objetivo geral verificar a ocorrência da infecção congênita pelo herpesvírus humano tipo 6 (HHV-6). Os objetivos específicos do estudo foram:

3.1. Estimar a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6 em recém-nascidos atendidos no HCFMRP-USP.

3.2. Descrever as características clínicas ao nascimento dos recém-nascidos identificados como portadores de infecção congênita pelo HHV-6.

3.3. Verificar a persistência da excreção do HHV-6 na saliva e na urina de crianças infectadas congenitamente por este vírus.

## **4 - CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **1 - População de Estudo**

Participaram do estudo recém-nascidos atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP), no período de 13/12/2008 a 14/06/2009. O HCFMRP-USP caracteriza-se pelo atendimento à população usuária dos serviços públicos de assistência médica do Sistema Único de Saúde (SUS) em Ribeirão Preto, sendo também referência para as cidades da região pertencentes ao DIR XVIII (Altinópolis, Barrinha, Batatais, Brodowski, Cajuru, Cássia dos Coqueiros, Cravinhos, Dumont, Guariba, Guataparã, Jaboticabal, Jardinópolis, Luiz Antônio, Monte Alto, Pintangueiras, Pontal, Pradópolis, S.C. Esperança, Santa Rosa do Viterbo, Santo Antônio da Alegria, São Simão, Serra Azul, Serrana e Sertãozinho), quanto ao atendimento de patologias obstétricas e neonatais. O HCFMRP-USP assiste tanto às gestantes e recém-nascidos de baixo como de alto risco. Segundo o arquivo de registro de nascimentos do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) e tendo como referência os anos de 2007/2008, foram realizados aproximadamente 2180 partos por ano neste hospital.

Para o cumprimento dos objetivos propostos, delineou-se um estudo descritivo de prevalência através de uma triagem neonatal utilizando testes laboratoriais de diagnóstico rápido de infecção congênita pelo HHV-6. Imediatamente após o parto, as mães dos recém-nascidos foram convidadas a participar do estudo e após obtenção do termo de consentimento informado, as crianças foram incluídas segundo os seguintes critérios: recém-nascidos de qualquer idade gestacional nascidos consecutivamente e com quaisquer características clínicas ao nascer e dos quais foi possível a obtenção de uma amostra de saliva na primeira semana de vida.

Além da amostra de saliva, programou-se a obtenção de amostras de sangue capilar de todas as crianças participantes e adicionalmente, a obtenção de uma amostra de urina das que tiveram o DNA viral detectado na saliva, ou seja, com infecção congênita presumida por este vírus.

As amostras de sangue capilar seco em papel filtro remanescentes dos utilizados na triagem neonatal de erro inato do metabolismo e hemoglobinopatias foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Triagem Neonatal do HCFMRP-USP, sob responsabilidade da Prof. Dra. Lea Maria Zanini Maciel. Todas estas amostras foram estocadas a -20 °C, após serem identificadas com um número do protocolo de estudo, data de nascimento e de coleta para cada criança.

## **2 - Critérios de definição de infecção congênita pelo HHV-6**

Foram considerados como infectados congenitamente pelo HHV-6 aqueles recém-nascidos que tiveram o DNA do vírus detectado na saliva e confirmada no sangue capilar.

Programou-se o acompanhamento no Ambulatório de Infecções Congênitas e Perinatais do HCFMRP-USP de todas as crianças identificadas como tendo infecção congênita pelo HHV-6, com avaliações clínicas mensais no primeiro semestre e a cada dois meses no segundo semestre. Durante o seguimento, foram feitas avaliações com ênfase nas potenciais manifestações clínicas sugestivas de infecção congênita bem como possíveis alterações tardias neurológicas, oculares ou auditivas como consequência da infecção congênita pelo HHV-6. Na presença de algum sinal ou sintoma clínico sugestivo de infecção congênita, eram realizados exames complementares como tomografia de crânio, avaliação objetiva da audição e fundoscopia ocular. Adicionalmente, foram obtidas amostras seqüenciais de saliva e urina nas ocasiões das visitas agendadas para monitorização da excreção do vírus na saliva e na urina.

### **3 - Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP, protocolo número 9330/2008.

Os protocolos de aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP e o termo de consentimento informado estão apresentados nos Anexos A e B. As mães foram informadas sobre os objetivos e características do estudo sendo solicitado o seu consentimento escrito antes da inclusão no mesmo.

## **4 - Métodos Laboratoriais**

### **4.1 - Coleta das Amostras**

Com relação à obtenção de saliva, durante a coleta foram obtidas duas amostras de cada criança (uma de cada lado da face interna das bochechas), com *swabs* estéreis colocados gentilmente na cavidade oral das crianças durante o período de 1 minuto, para a umidificação adequada dos mesmos. Posteriormente, os *swabs* contendo a saliva foram transferidos para tubos plásticos estéreis contendo 1 ml de meio de transporte (MEM Earle, Cultilab, Brasil). Após 60 minutos, os *swabs* foram retirados, desprezados e o meio de transporte contendo a saliva foi armazenado a 4° C até o processamento, que se realizou até no máximo de 24 horas. As amostras de urina foram colhidas das crianças, sabidamente infectadas pelo HHV-6, com cuidados de assepsia, em sacos coletores hipoalergênicos durante as consultas de retorno.

### **4.2 - Preparo das Amostras**

As amostras de saliva e urina foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) sem extração prévia de DNA, apenas fervidas a 94° C durante seis minutos e resfriadas imediatamente a 4° C.

As amostras de sangue capilar seco em papel filtro foram submetidas à eluição prévia. Para o procedimento, foram obtidos dois picotes de aproximadamente 3mm de diâmetro e colocados em tubos plásticos estéreis contendo 150 µl de meio de transporte (MEM Earle, Cultilab, Brasil). Posteriormente, foram aquecidos a 55° C durante 1 hora com agitação e a 100° C durante 7 minutos,

resfriados a 4° C durante 15 minutos e centrifugados a 10.000 rpm por 3 minutos. Para a PCR, foi utilizado 1 µl deste eluato.

### 4.3 - Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

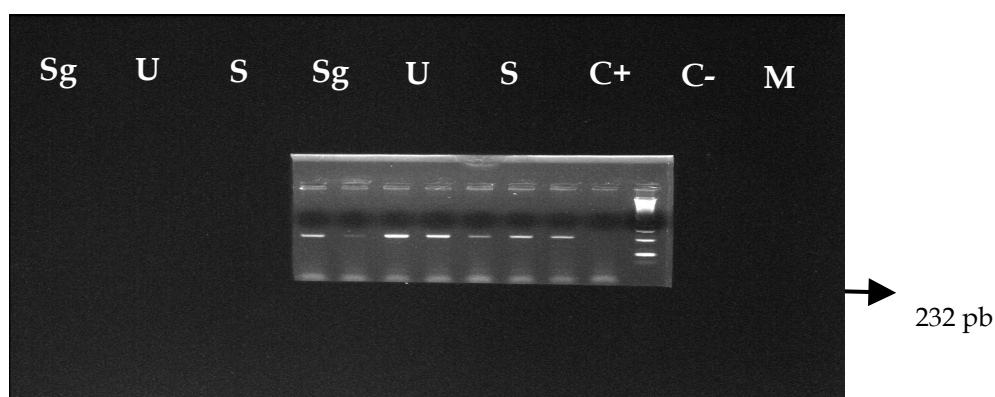
Para a detecção do HHV6 na saliva e na urina foi utilizado um par de *primers* (CONE et al., 1993; McELHINNEY; COOPER; MORRIS, 1995), que amplifica parte de uma região do gene U67 (5' AAGCTTGCACAATGCCAAAAACAG 3' e 5' CTCGAGTATGCCGAGACCCCTAATC 3'), com tamanho do produto de 223bp. A mistura da reação continha 2,5 µl do controle positivo do HHV6 (amostra clínica previamente testada contendo o DNA do HHV-6); 2,5 µl controle negativo (água deionizada); 2,5 µl de amostras de saliva ou de urina; 20 mM Tris-HCl (pH 8.4); 50 mM KCl; 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0.2 mM de cada um dos deoxinucleotídeos; 15 pmoles de cada par de iniciadores ou *primers* do HHV-6 e 1 unidades da enzima Taq DNA Polimerase (Platinum Invitrogen, CA), em um volume final de 25 µl. Inicialmente, as misturas foram submetidas à desnaturação a 95° C, por 4 min, em termociclador (MJ, USA). Em seguida, foram realizados 40 ciclos térmicos, a 94° C por 60 seg, 55° C por 60 seg e 72° C por 60 seg e uma extensão final a 72° C, por 7 min.

Para a amplificação do DNA do HHV-6, a partir de amostras de sangue capilar, foi utilizada técnica de PCR rápida com realização de 30 ciclos em 60 minutos, utilizando um termociclador com rampa de aquecimento rápido comparado com os termocicladores convencionais (PIKO, Finnzymes, Finland). Adicionou-se 1 µl do eluato de sangue obtido em papel filtro à mistura de reação contendo 10 µl do *Master mix 2 x Phusion Flash*, (Finnzymes, Finland) que contém a enzima DNA polimerase modificada *Hot Start* e concentrações padronizadas de deoxinucleotídeos e cloreto de magnésio, 0,5 µM de cada um dos mesmos *primers* descritos para amplificação na saliva de uma região do gene U 67, em volume final de 20 µl. Controle positivo do HHV6 (amostra clínica previamente testada contendo o DNA do HHV-6) e controle negativo (água deionizada) foram adicionados em



todos os ensaios. Inicialmente, as misturas foram submetidas à desnaturação a 98° C, por 10 segundos e em seguida, foram realizados 30 ciclos térmicos, a 98° C por 1 seg e 72° C por 15 seg. Ao final, as misturas foram incubadas a uma extensão final de 72° C, por 1 min.

Para a revelação da reação, 10 µl dos produtos amplificados foram analisados após eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio, 0,5 µg/ml. A eletroforese foi efetuada a 100V, por 30 min, em solução tampão TBE (Tris 0,089 M, Borato 0,089 M, EDTA 0,01M pH 7,5). Posteriormente, os géis foram visualizados à luz ultravioleta e fotografados em sistema de foto-documentação Kodak Digital Science™ (USA). O tamanho dos produtos amplificados foi determinado pela comparação com um marcador de 100 pares de base, conforme mostra a Figura 2.



**Figura 2:** Gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio, mostrando as bandas do produto amplificado de 232 pb correspondentes às amostras de sangue capilar, urina e saliva de crianças identificadas com infecção congênita pelo HHV-6. Pb = pares de bases; Sg = sangue; U = urina; S = saliva; C+ = controle positivo; C- = controle negativo; M= marcador de peso molecular.

## 5 - Análise Estatística

Para análise dos resultados foi elaborado um banco de dados no programa Epi Info 2000, versão 6, *Public Health Practice Program Office*, CDC. A estimativa do tamanho amostral foi calculada utilizando programa estatístico (EPIINFO versão 6.0). Baseado nos dados da literatura, foi considerado uma prevalência de infecção congênita pelo HHV-6 de 1,1% (HALL et al., 2004). Assumindo-se uma variação de 0,5% a 1,5%, com intervalo de confiança de 95%,  $\alpha = 5\%$ , o tamanho amostral mínimo seria de 1010 recém-nascidos.

## 5 - RESULTADOS

### 1 - Características demográficas da população estudada

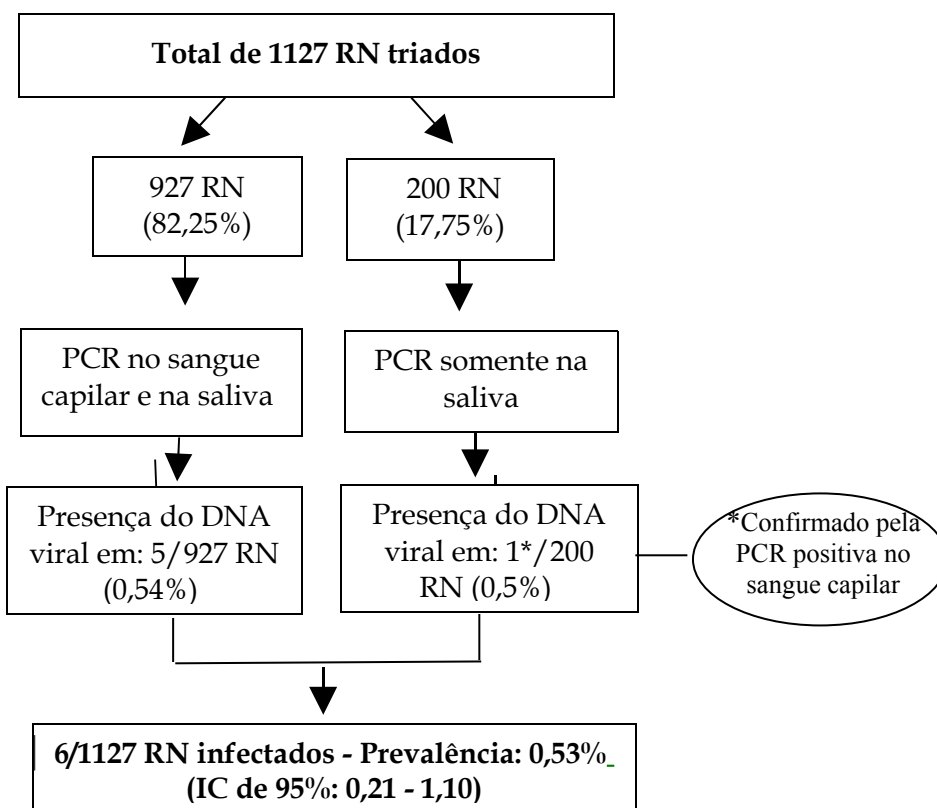
O estudo incluiu 1127 recém-nascidos participantes da triagem neonatal para identificação da infecção congênita pelo HHV-6, no período de 13/12/2008 a 14/06/2009. Destes, 1057 (93,8%) nasceram no HCFMRP-USP e 70 (6,2%) foram referidos das cidades da região de Ribeirão Preto (DIR XVIII) ao Hospital após o nascimento e durante a primeira semana de vida. Dentre os 1127 recém-nascidos participantes, 154 (13,6%) necessitaram de cuidados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Com relação ao sexo, 599/1127 (53%) eram do sexo masculino e 528/1127 (47%) do sexo feminino. Com relação à idade gestacional, 880/1127 (78%) nasceram a termo (idade gestacional  $\geq$  37 semanas e  $<$  42 semanas) e 247/1127 (22%) eram prematuros (idade gestacional  $<$  37 semanas). A média do peso e comprimento ao nascimento destas crianças foram 2987 gramas ( $\pm$  734,3 gramas) e 47,7 centímetros ( $\pm$  3,4 cm), respectivamente. A mediana da idade gestacional determinada pelo Capurro Somático foi de 38 semanas, com variação de 23 a 42 semanas. Com relação ao tipo de parto, 639/1127 (56,7%) nasceram de parto vaginal e 488/1127 (43,3%) de cesárea. Dentre os 1127 recém-nascidos, 74 (6,6 %) eram gemelares.

Com relação às mães, 794/1090 (72,8%) residiam na cidade de Ribeirão Preto e 296/1090 (27,2%) eram procedentes de outras cidades. Dentre o total de 1090 mulheres, 1066 (97,8%) realizaram o pré-natal e 24 (2,2%) não o realizaram. A mediana da idade materna foi de 26 anos, com variação de 14 a 47 anos.

### 2 - Estimativa da prevalência ao nascimento da infecção congênita pelo HHV-6, nos recém-nascidos atendidos no HCFMRP-USP

Dos 1127 recém-nascidos (RN) incluídos no estudo, foram processadas 2254 amostras de saliva (duas amostras de cada RN) e uma de sangue capilar de 927 RN do total de 1127 (82,5%), para detecção do DNA do HHV-6. Conforme mostra a Figura 3, do total de 1127 recém-nascidos, 6 (0,53%) tiveram o DNA do HHV-6 identificado na saliva obtida ao nascimento e dentre os 927 recém-nascidos, 5 (0,54%) tiveram o DNA do HHV-6 identificado nos dois sítios corporais. Dentre os 200 RN que tiveram apenas a amostra de saliva analisada, 1 (0,5%) foi identificado como presumivelmente infectado pela presença do DNA viral na saliva. Para este recém-nascido, foi resgatada uma amostra de sangue capilar, sendo confirmada como infectado congenitamente pela presença do DNA viral nesta amostra.

A definição e exclusão do diagnóstico de infecção congênita pelo HHV-6 em 1127 recém-nascidos atendidos no HCFMRP-USP está apresentada na Figura 3. A detecção do DNA do HHV-6 foi observada na saliva e no sangue capilar em seis recém nascidos; portanto, a prevalência da infecção congênita pelo HHV-6 foi de 0,53% (IC de 95%: 0,21-1,10).



**Figura 3:** Distribuição dos recém-nascidos segundo o sítio de excreção viral (saliva e ou sangue capilar) analisados e proporção de infectados e não infectados congenitamente pelo HHV-6.

### **3 - Características clínicas e demográficas ao nascimento das crianças com infecção congênita por HHV-6**

Dentre as crianças identificadas como portadoras de infecção congênita pelo HHV-6, 2/6 (33,3%) eram do sexo masculino e 4/6 (66,7%) do sexo feminino, sendo todos nascidos a termo. A média do peso e comprimento ao nascimento destas 6 crianças foram 3017,5 gramas ( $\pm$  563,8 gramas) e 47,33 centímetros ( $\pm$  1,53 cm), respectivamente. Com relação ao tipo de parto, 4/6 (66,7%) nasceram de parto vaginal e 2/6 (33,3%) de cesárea. A mediana da idade gestacional determinada pelo Capurro Somático foi de 38 semanas, com variação de 37 a 40 semanas; respectivamente.

Dentre as seis crianças infectadas congenitamente pelo HHV-6, com exceção de uma criança, que foi pequena para idade gestacional, todas nasceram adequadas para idade gestacional (AIG). Possível fator associado à restrição do crescimento intra-uterino identificado nesta criança foi a soropositividade materna para o vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Com relação às manifestações clínicas sugestivas de infecção congênita, todas eram assintomáticas, com exceção de uma criança. Mais detalhadamente, tratava-se de um recém-nascido a termo e adequado para idade gestacional, com Apgar 8 e 9. Mãe era gesta 3 para 3 aborto 0, grupo sanguíneo O RH negativo. Fez pré-natal das gestações anteriores em outro serviço e referiu ter recebido a imunoglobulina anti-RH na primeira gestação e não ter recebido na segunda gestação. Gestações anteriores sem intercorrências e dois filhos anteriores sem história de icterícia neonatal. RN com grupo sanguíneo A Rh positivo e teste de Combs direto positivo. Evoluiu com icterícia precoce com 8 horas de vida, apresentando elevação da bilirrubina indireta e direta (total= 25,45 mg/dl (2,0-6,0 mg/dl); fração direta= 9,91 mg/dl), anemia com hematocrito= 32 e hemoglobina= 9,6 g/dl). O fígado era palpável a 2 cm do rebordo costal direito e baço palpável a 1,5 cm do rebordo costal esquerdo. Pelo alto nível de hiperbilirrubinemia indireta, a criança foi submetida à exsanguíneo-transfusão nas primeiras 24 horas de vida. Evoluiu

bem, com normalização dos níveis de bilirrubina, mantendo a esplenomegalia. Tomografia de crânio e ressonância magnética de encéfalo foram normais. Embora as manifestações clínicas desta criança possam ser atribuídas à doença hemolítica pelo fator Rh, o HHV-6 não pode ser excluído como potencial agente causal destas manifestações clínicas. A Tabela 1 mostra as principais características demográficas das seis crianças identificadas com infecção congênita pelo HHV-6.

**Tabela 1:** Características dos seis recém-nascidos identificados com infecção congênita pelo HHV-6.

Criança	Sexo	Peso (g)	PC (cm)	Id. Gest. (sem)	Sinais clínicos
6434 A	Masc.	3330	35	38	AIG, hepatoesplenomegalia, icterícia com bilirrubina direta aumentada
6677 A	Fem.	2705	33	38	AIG, ausência de manifestações clínicas
7056 A	Fem.	2670	34,5	39	AIG, ausência de manifestações clínicas
7169 A	Fem.	3320	33,5	40	AIG, ausência de manifestações clínicas
7268 A	Fem.	2310	33	37	PIG, ausência de manifestações clínicas
7294 A	Masc.	3820	35	40	AIG, ausência de manifestações clínicas

PC= perímetro cefálico; Id. Gest. = idade gestacional; AIG = adequado para a idade gestacional; PIG = pequeno para a idade gestacional; sem = semanas; g = gramas; cm= centímetros; Masc. = masculino; Fem. = feminino.

Com relação às características demográficas e obstétricas das seis mães que tiveram filhos infectados congenitamente pelo HHV-6, cinco residiam na cidade de Ribeirão Preto e apenas uma era procedente de outra cidade. A mediana da idade materna foi de 26 anos, com variação de 15 a 39 anos. Todas realizaram o pré-natal. Duas eram primigestas e quatro tinham história de outras gestações. Dentre as mães

com gestações anteriores, uma tinha história de natimorto com mal-formações na gestação anterior, uma mãe tinha quatro gestações anteriores, com dois abortos e duas tiveram gestações anteriores sem intercorrências. Somente uma mãe era soropositiva ao HIV e nenhuma apresentava sorologia sugestiva de toxoplasmose aguda, sífilis, hepatite B e pelo vírus C. Com relação à história de contato com crianças pequenas, uma mãe referia contato diário no trabalho com crianças menores de dois anos, realizando atividades de cuidados diretos, como troca de fraldas e outras duas mães tinham história de contato com lactentes jovens em casa. Nenhuma mãe referiu história de febre, doenças exantemáticas, transfusões de derivados de sangue ou uso de medicações imunossupressoras na atual gestação.

#### **4 - Detecção do DNA do HHV-6 ao nascimento em dois sítios corporais**

Todas as crianças consideradas infectadas congenitamente pelo HHV-6 tiveram a presença do DNA viral na saliva e no sangue capilar ao nascimento. A mediana da idade das crianças, durante o momento da coleta das amostras de sangue capilar, foi de 4,5 dias (com variação de 1 a 7 dias). As amostras de saliva foram obtidas de todos os recém-nascidos no primeiro dia de vida, como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2:** Detecção do DNA do HHV-6 ao nascimento em dois sítios corporais distintos das seis crianças identificadas com infecção congênita pelo HHV-6.

Criança	Nascimento			
	SANGUE CAPILAR		SALIVA	
	Resultado da PCR	Idade da criança no momento da coleta (dias)	Resultado da PCR	Idade da criança no momento da coleta (dias)
6434	Positivo	1	Positivo	1
6677	Positivo	7	Positivo	1
7056	Positivo	5	Positivo	1
7169	Positivo	3	Positivo	1
7268	Positivo	6	Positivo	1
7294	Positivo	4	Positivo	1

### **5 - Persistência da excreção do HHV-6 na saliva e na urina das seis crianças infectadas**

Amostras seqüenciais de saliva e de urina foram obtidas das crianças infectadas após o nascimento até a mediana de 5,5 meses de idade (variação de 5 a 9 meses), como mostra a Tabela 3. A virúria foi observada em quatro (67%) destas crianças. Destas, até a data atual, somente uma criança completou os nove meses de idade, com manutenção da excreção viral na saliva. A persistência da excreção do HHV-6 foi observada, em todas as crianças até a última amostra de urina e/ou de saliva obtidas de cada criança, como mostra a Tabela 3.



**Tabela 3:** Detecção do DNA do HHV-6 na saliva e na urina de crianças com infecção congênita pelo HHV-6, durante o período de seguimento.

Criança	Idade das Crianças							
	≥ 1 mês < 3 meses		≥ 3 meses < 5 meses		≥ 5 meses < 8 meses		≥ 9 meses	
	Saliva	Urina	Saliva	Urina	Saliva	Urina	Saliva	Urina
<b>6434</b>	N.O.	N.O.	Pos.	Neg.	N.O.	N.O.	Pos.	Neg.
<b>6677</b>	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	N.C.I	N.C.I
<b>7056</b>	N.O.	N.O.	N.O.	N.O.	Pos.	Pos.	N.C.I	N.C.I
<b>7169</b>	N.O.	N.O.	N.O.	N.O.	Pos.	Pos.	N.C.I	N.C.I
<b>7268</b>	N.O.	N.O.	Pos.	Pos.	N.O.	N.O.	N.C.I	N.C.I
<b>7294</b>	N.O.	N.O.	N.O.	N.O.	Pos.	Neg.	N.C.I	N.C.I

N.O. = amostra não obtida; N.C.I = não completou idade; Pos. = positivo; Neg. = negativo; ≥ = maior ou igual; <= menor.

Embora existam estudos no Brasil mostrando a alta soroprevalência ao HHV-6 em crianças (FREITAS; LINHARES, 1997; FREITAS; MONTEIRO; LINHARES, 2000; LINHARES et al., 1991), não existem dados sobre a prevalência da infecção congênita por este vírus e especialmente se esta infecção é a causa de doença no período neonatal e se cursa com alguma seqüela futura. Considerando que o HHV-6 pertence à subfamília *Betaherpesvirinae*, tendo como característica a replicação viral lenta, a exemplo do CMV, existe o questionamento se o HHV-6 transmitido no período intra-uterino tem um comportamento similar ao CMV mantendo uma replicação viral prolongada nas crianças com infecção congênita.

Os resultados deste estudo mostram que mesmo em uma população com alta soroprevalência para o herpesvirus humano tipo 6 (HHV-6) como a encontrada no Brasil, com cerca de 75% a 100% (FREITAS; LINHARES, 1997; LINHARES et al., 1991), a prevalência da infecção congênita por este vírus parece ser similar à encontrada em estudos prévios realizados em outros países (ADAMS et al., 1998; DAHL et al., 1999; HALL et al., 2004). A taxa de 0,53% (IC95%= 0,21 a 1,10) é similar à prevalência da infecção congênita pelo CMV, sendo esta de 1,08% (IC95%= 0,83 a 1,33) na mesma população estudada (MUSSI-PINHATA et al., 2009) e de 0,5 a 2,2 % em outros países (ROSS; BOPPANA, 2004).

Com relação aos estudos já realizados em diferentes populações sobre a infecção congênita pelo HHV-6, a taxa de soroprevalência ao nascimento desta infecção tem sido descrita como sendo de aproximadamente 1% (ADAMS et al., 1998; DAHL et al., 1999; HALL et al., 2004). Em estudo realizado na Alemanha com número restrito de crianças, Adams et al. (1998) encontraram uma prevalência de 1,6% (5/305). Em outro estudo, na Suécia, também com número restrito de crianças, Dahl et al. (1999), verificaram uma prevalência de aproximadamente 1% (2/211), sendo as duas crianças infectadas com a variante tipo B do vírus. Mais recentemente, Hall et al. (2004), nos Estados Unidos, realizaram estudo com casuística maior e determinaram uma taxa de 1% (57/5638), sendo um terço destas crianças infectadas com o tipo A e a grande maioria com a variante B.

O impacto clínico da infecção congênita pelo HHV-6 no período neonatal e o potencial para manifestações tardias, a exemplo do que ocorre em crianças infectadas congenitamente pelo CMV, ainda não é conhecido. Dentre as crianças identificadas como tendo infecção congênita pelo HHV-6, manifestações clínicas sugestivas de infecção congênita foram observada em um caso, caracterizada por hepatoesplenomegalia e icterícia com aumento de bilirrubina direta ao nascimento, nas primeiras 24 horas de vida. Embora estes achados possam ser atribuídos à doença hemolítica por incompatibilidade pelo fator Rh, o HHV-6 pode ter sido um agente causal adicional, contribuindo para os achados clínicos ao nascimento.

Estudos prévios de identificação de infecção congênita pelo HHV-6 têm mostrado que a grande maioria das crianças infectadas é assintomática (DAHL et al., 1999; HALL et al., 1994) e que esta característica pode ser atribuída ao fato de que a infecção congênita pelo HHV-6 ocorre quase que exclusivamente na presença de imunidade materna prévia, ou seja, pela reativação viral materna, situação que confere proteção contra a doença congênita. Entretanto, existem relatos de casos sintomáticos sugestivos de infecção congênita como resultado desta infecção.

Ashshi et al. (2000), detectaram o DNA do HHV-6 em dois de oito fetos mortos com hidropsia e em nenhum de dez fetos mortos não-hidrópicos, pertencentes a grupo controle. Ambos os casos com infecção presumida pelo HHV-6 tinham também anomalias cromossômicas (síndrome de Down e de Turner), podendo ser responsáveis pela hidropsia fetal. Entretanto, é possível que o HHV-6 tenha sido uma causa adicional contribuinte para o óbito fetal. O DNA do HHV-6 foi detectado através da técnica de PCR em amostras de tecidos do rim, fígado, coração, pulmão e placenta no primeiro caso, e somente nos tecidos do coração e pulmão do outro caso. A análise do polimorfismo do fragmento de restrição confirmou que o DNA do HHV6 era da variante do tipo A nos dois casos.

Ainda com relação aos potenciais achados clínicos de infecção congênita pelo HHV-6 ao nascimento, Lanari et al. (2003), relataram o caso de uma criança com infecção congênita pela variante B. A criança era do sexo feminino, nascida a termo, com 2960 gramas e de parto vaginal e apresentava ao nascimento erupção maculopapular e envolvimento neurológico. O DNA viral foi detectado no líquido

obtido nos primeiros dias de vida, através da PCR. Foram excluídos outros agentes causadores de infecção congênita como citomegalovírus, rubéola, toxoplasmose, hepatite B e C e HIV. A avaliação de acometimento neurológico pela ressonância magnética evidenciou atrofia cerebral. A criança apresentou melhora do seu quadro clínico após tratamento com o antiviral ganciclovir. Entretanto, a criança aos 18 meses de idade, evoluiu com seqüela neurológica, com atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, estrabismo e hipertonia dos pés. Adicionalmente, Rentz et al. (2007), em estudo realizado em um centro de terapia intensiva neonatal nos Estados Unidos, identificaram o DNA do HHV-6 em amostras de plasma de cinco crianças durante a primeira semana de vida, através da técnica de PCR, sendo estas crianças presumidamente portadoras da infecção congênita pelo HHV-6. Os autores não observaram diferenças significativas nas características clínicas entre as crianças HHV-6 positivas e HHV-6 negativas, embora a plaquetopenia tenha sido mais freqüentemente observada em crianças infectadas por este vírus.

Com relação aos sítios corporais onde o vírus foi identificado nas crianças infectadas congenitamente, todos os estudos prévios identificaram o DNA do HHV-6 em amostras de sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos. Em nenhum destes estudos foram analisados outros sítios corporais para a detecção viral, tais como a urina e a saliva, com exceção de Zerr et al. (2005), que colheram amostras seriadas de saliva de crianças desde o nascimento até a idade de dois anos e detectaram o vírus na saliva de três crianças durante a primeira semana de vida, sugerindo infecção congênita pelo HHV-6.

No presente estudo, foi realizada a detecção de DNA do HHV-6 em amostras de saliva, sangue capilar e naquelas crianças identificadas como infectadas, obtiveram-se também amostras de urina. Em todas as crianças em que o DNA viral foi detectado na saliva também foi demonstrada a ocorrência de material genômico viral no sangue, confirmando que a presença do DNA na saliva destas crianças era resultante de infecção por este vírus no período intra-uterino e não resultante de potencial contaminação da saliva com secreções cervicais maternas contaminadas com o vírus. Com relação à presença de material viral na urina, 2 (33%) das seis crianças infectadas não apresentavam virúria, em contraste com a infecção congênita

pelo CMV, em que 100% das crianças infectadas congenitamente pelo CMV apresentam a excreção do vírus na urina ao nascimento, sendo a virúria considerada como o melhor marcador virológico de confirmação da infecção congênita por este vírus (STAGNO et al., 1983; WARREN et al., 1992).

Dejean-Guatheret et al. (1997), verificaram a presença de DNA do CMV e do HHV-6 em amostras de urina e saliva em 125 pacientes portadores de HIV, e em 29 pacientes saudáveis. As taxas de detecção dos vírus na saliva destes pacientes foram muito elevadas, tendo sido de 61% do CMV e 43% do HHV-6. Contudo, na urina o CMV foi detectado muito mais freqüentemente do que o HHV-6, com taxas de 37% e 2%, respectivamente. Os autores sugerem que o CMV geralmente está presente e em replicação ativa no trato urinário humano, estabelecendo uma infecção persistente com virúria por períodos prolongados e o HHV-6 não teria uma replicação ativa em células e tecidos renais e sua presença na urina poderia ser secundário à contaminação pelo sangue contendo o vírus.

Diferentemente do que foi demonstrado por Dejean-Guatheret et al. (1997) em indivíduos adultos, em nosso estudo, a detecção do HHV-6 na urina foi observada em 4/6 (67%) das crianças infectadas congenitamente por este vírus. A presença do DNA viral foi identificada na urina destas crianças pela PCR sem extração prévia do DNA, sugerindo que o vírus pode estar presente na urina em grande quantidade e não associada às células epiteliais, como resultado de replicação do HHV-6 em células tubulares renais, a exemplo do que ocorre em crianças com infecção congênita pelo CMV.

Dados sobre a persistência da excreção do vírus infectante ou sobre a presença do DNA viral na saliva, urina ou mesmo no líquido de crianças com infecção congênita pelo HHV-6 poderiam responder se a replicação viral nestas crianças é prolongada a exemplo do CMV. Hall et al. (2004), realizaram a reação da transcriptase reversa, seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para o HHV-6 no sangue do cordão umbilical de 48 recém-nascidos com infecção congênita pelo HHV-6, buscando determinar a ocorrência de replicação ativa do vírus nas células mononucleares sanguíneas. Dentre as 48 crianças, os autores demonstraram a

replicação viral em apenas 10% (5/48), sendo todas correspondentes à variante tipo B do vírus. Das 57 crianças inicialmente consideradas portadoras da infecção congênita pelo HHV-6, 17 crianças foram acompanhadas por um período de dois anos após o nascimento. Destas 17 crianças, foram obtidas 46 amostras de células mononucleares de sangue periférico, tendo sido o DNA do HHV-6 identificado em 42 (91%) das amostras. Adicionalmente, a RT-PCR foi realizada em 22 destas 46 amostras de 17 crianças durante o seguimento e em apenas 2 (9%) destas foi demonstrado replicação ativa do HHV-6. Pass (2004), comentando este estudo, enfatiza a necessidade de outros estudos buscando saber se a persistência da replicação viral nestas crianças é prolongada como ocorre em crianças infectadas pelo CMV, uma vez que no estudo realizado por Hall et al. (2004), os autores não encontraram evidências de replicação do HHV-6 na maioria de suas crianças identificadas com infecção congênita pelo vírus. Adicionalmente, existe a possibilidade de contaminação do sangue de cordão umbilical pelo sangue materno contendo o DNA do HHV-6, sendo importante a detecção viral em outros fluídos corporais para confirmação da infecção congênita por este vírus.

No presente estudo, a persistência da excreção deste vírus na urina e na saliva destas crianças ocorreu até a mediana de 5,5 meses de idade nas crianças infectadas, sugerindo que a replicação do HHV-6 nestas crianças é prolongada, a exemplo do que ocorre com as crianças infectadas congenitamente pelo CMV (ALFORD et al., 1990; PASS et al., 1987). Esta persistência da replicação viral na saliva foi observada em crianças jovens com infecção adquirida no período pós-natal por Zerr et al. (2005), que acompanharam 277 crianças por aproximadamente 79 semanas. Não existem ainda dados prévios sobre a persistência da excreção do HHV-6 na urina de crianças com infecção congênita ou pós-natal.

O isolamento do HHV-6 a partir de amostras de saliva em pessoas saudáveis e assintomáticas (CONE et al., 1993; DEJEAN-GAUTHERET et al., 1997) têm sugerido que a transmissão do vírus por esta fonte ocorre freqüentemente e que as glândulas salivares são sítios preferenciais de replicação e persistência deste vírus. A detecção viral por hibridação "in situ" tem mostrado que o HHV-6 e o CMV têm locais de replicação independentes nos tecidos salivares; enquanto o primeiro

geralmente está presente na mucosa, serosa e células colunares das glândulas submandibulares e das parótidas e o CMV é detectado apenas nas células da mucosa das glândulas submandibulares (FOX et al., 1990).

Diferentes estudos epidemiológicos em países desenvolvidos e em desenvolvimento (FREITAS et al., 1995; FREITAS; LINHARES, 1997; PRUKSANANONDA et al., 1992; ZERR et al., 2005), mostram que a aquisição da infecção pelo HHV-6 é universal durante a infância, contrastando com o que ocorre com a infecção pelo CMV, cuja soroprevalência depende da classe sócio-econômica e do comportamento sexual de uma determinada população (FOWLER; PASS, 2006), em que uma proporção variável da população, de 30% a 50% das mulheres atingem a idade adulta sem contato prévio com o vírus. Assim, uma parcela considerável da infecção congênita pelo CMV pode ser resultado de infecção primária materna; ao contrário, a infecção congênita pelo HHV-6 devido à infecção materna primária, parece ser um evento extremamente raro, já que praticamente todas as mulheres em idade fértil já tiveram a primo-infecção pelo HHV6 no passado. Desta forma, presume-se que as infecções congênitas pelo HHV-6 ocorrem quase que exclusivamente como resultado da reativação viral durante a gestação (HALL et al., 2004). Entretanto, a infecção congênita em crianças de mães com imunidade prévia ao CMV, pode ocorrer devido à reinfeção ou a reativação do vírus, acreditando-se que a primeira forma seja a responsável pelos casos sintomáticos (BOPPANA et al., 2001). Ainda não se sabe se a reinfeção materna com diferentes cepas virais ou se a reativação da cepa endógena da infecção é responsável pela grande maioria dos casos de infecção congênita pelo CMV decorrente de infecção materna não primária. Considerando que ambos os vírus, CMV e o HHV-6, apresentam variabilidade nas seqüências nucleotídicas dos seus genomas, a reinfeção materna por diferentes cepas do HHV-6 (variante A ou B) também poderia explicar os casos de infecção congênita por este vírus em mulheres com imunidade prévia.

A reativação do HHV-6 e do CMV durante a gestação e a transmissão vertical foram investigados em estudo feito por Dahl et al. (1999) na Suécia, através da detecção viral e testes sorológicos. Amostras de sangue foram obtidas durante o terceiro e o quinto meses de gestação e no momento do parto, ou durante o sexto e o

oitavo meses de gestação e no momento do parto, de 104 gestantes. O DNA do HHV-6 foi detectado em 41% das amostras obtidas durante o terceiro e o oitavo meses de gestação, em 44% das amostras obtidas durante o quinto e o sexto meses de gestação e em 25% no momento do parto nas mulheres gestantes, e em 24% de um grupo de mulheres não gestantes. Os anticorpos IgG do HHV-6 foram detectados em 100 (96%) das mulheres gestantes e aumento significativo nos títulos após a positividade da primeira PCR foi observada em 5 (4,8%) das 104 mulheres, indicando reativação. Da mesma maneira, o DNA do CMV foi detectado em 1,7% dos leucócitos das 104 amostras das mulheres grávidas. Os anticorpos IgG para o CMV foram encontrados em 62,5% das mulheres e aumento significativo nos títulos de IgG anti-CMV foram observados em 3 (2,9%) destas mulheres. A taxa de transmissão vertical do HHV-6 neste estudo foi de 1% e nenhum caso de infecção congênita pelo CMV foi encontrado, através da detecção do DNA viral em amostras de sangue de cordão umbilical (DAHL et al., 1999).

Ohashi et al. (2002), analisaram os títulos de anticorpos do HHV-6 em 432 amostras de plasma de 123 mulheres grávidas, sendo que destas amostras, 69 eram de sangue de cordão umbilical materno. Anticorpos IgM do HHV-6 não foram detectados em nenhuma das amostras. Entretanto, anticorpos IgG do HHV-6 foram detectados em todas as amostras, indicando que todas estas mulheres já haviam sido previamente infectadas por este vírus. Os autores mencionam no estudo que a soroprevalência do CMV nas mulheres grávidas vem diminuindo gradualmente no Japão, provavelmente como resultado da mudança no estilo de vida. Em contraste, a soroprevalência do HHV-6 nas gestantes tem permanecido estável nos últimos 10 anos.

A detecção do DNA viral no trato genital feminino tem sido relatada, a exemplo do observado com o CMV e o Herpes simples tipo 2 (FOWLER; PASS, 2006). As taxas de detecção do HHV-6 neste sítio variam de 18% a 25% entre as mulheres grávidas em geral e é de 10% em gestantes atendidas em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis (LEACH et al., 1994; MAEDA et al., 1997; OKUNO et al., 1995). Entretanto, apesar destes estudos terem relatado uma significativa taxa de detecção de DNA do HHV-6 no trato genital de gestantes, ainda



não é conhecido se mulheres portadoras de doenças sexualmente transmissíveis tem maior risco para a transmissão vertical do HHV-6, a exemplo do que ocorre com o CMV (FOWLER; PASS, 2006).

Com relação às características maternas das crianças identificadas como portadoras de infecção congênita pelo HHV-6 no presente estudo, observamos que a transmissão ocorreu tanto em mulheres muito jovens como em mulheres com mais de 30 anos, com variação da idade de 15 a 39 anos. Os estudos epidemiológicos têm mostrado que na infecção congênita pelo CMV, as mulheres muito jovens e primíparas têm maior risco para a concepção de crianças portadoras de infecção congênita, (FOWLER; PASS, 2006; FOWLER; STAGNO; PASS, 1993, 2002; PREECE et al., 1986). A baixa idade pode estar associada à infecção primária materna pela exposição recente ao vírus, aumentando o risco da transmissão ao feto (FOWLER; STAGNO; PASS, 1993). Na infecção pelo HHV-6 ainda não existem estudos mostrando a associação entre a idade materna e a transmissão do vírus ao feto no período intra-uterino. Um potencial fator de risco para reativação e/ou reinfeção do HHV-6, caracterizado pela co-infecção com outras doenças infecciosas, resultando em imunodepressão, foi observado em uma mãe, que era soropositiva ao HIV. Adicionalmente, a ocupação materna aumentando as chances de exposição ao vírus foi observada em uma mãe, que teve contato próximo com crianças pequenas diariamente durante toda a gestação.

A importância da infecção congênita pelo HHV-6 como problema de saúde pública e o seu impacto ainda não é conhecido. Entretanto, os aspectos clínicos e virológicos diferem entre a infecção congênita e a infecção adquirida pelo HHV-6 em crianças. Uma destas diferenças, mostrada em estudos anteriores, refere-se às variantes das cepas virais, uma vez que um terço das cepas virais detectadas em crianças infectadas congenitamente era da variante A do vírus, enquanto que a infecção pós-natal é causada quase que exclusivamente pela variante B do HHV-6 (HALL et al., 2004). Outros estudos têm demonstrado que a variante A é detectada raramente (menos que 5%) em amostras de saliva de crianças infectadas durante o período pós-natal (DEWHURST et al., 1993; HALL et al., 1998). Entretanto, no líquido destas crianças, a variante A foi detectada mais frequentemente do que em outros

sítios (CASERTA et al., 1994; HALL et al., 1998). Estes resultados sugerem que o HHV-6A pode possuir um relativo tropismo para o sistema nervoso (HALL et al., 2004).

Em nosso estudo, não foi realizada a identificação das variantes virais responsáveis pela infecção congênita nas seis crianças infectadas. Considerando que o DNA do HHV-6 foi detectado na saliva de todas as crianças identificadas como portadoras de infecção congênita pelo HHV-6, ao nascimento e durante o período de seguimento, é provável que a variante B tenha sido a responsável pela maioria das infecções nestas crianças. Estudos adicionais, com grande número de crianças infectadas com identificação das cepas virais, seriam importantes para determinar qual a cepa viral é predominantemente encontrada nas infecções congênitas pelo HHV-6 no Brasil. Adicionalmente, estudos com maior número de crianças infectadas e seguimento a longo prazo poderiam definir o real impacto desta infecção como causa de manifestações clínicas a curto e a longo prazo, como já é conhecido para o CMV, que é reconhecido como o agente mais freqüente das infecções congênitas no homem e a principal causa de surdez neurossensorial não hereditária na infância (BOPPANA et al., 1992; ROSS; BOPPANA, 2004).

Desta forma, os dados deste estudo mostram que a prevalência de infecção congênita pelo HHV-6 não difere das relatadas em estudos prévios realizados em diferentes populações de outros países, e é similar à taxa de prevalência de 1,08% (IC95%= 0,83 a 1,33) de infecção congênita pelo CMV na mesma população. Embora o número de crianças identificadas tenha sido muito pequeno, este estudo reforça os dados de estudos prévios, mostrando que a maioria destas crianças infectadas congenitamente não apresenta sinais clínicos ao nascer. Adicionalmente, os resultados sugerem que a replicação do HHV-6 nestas crianças é prolongada, a exemplo do que ocorre com as crianças infectadas congenitamente pelo CMV.

## 7 - CONCLUSÕES

1- A prevalência de infecção congênita pelo HHV-6 neste estudo foi de 0,53% (IC95%= 0,21 a 1,10).

2- Com exceção de uma criança que apresentou manifestação clínica sugestiva de infecção congênita, todas as demais foram assintomáticas ao nascimento.

3- Todas as crianças infectadas congenitamente que tinham a presença viral na saliva e/ou urina ao nascer, apresentaram excreção persistente do HHV-6 em ambos os sítios corporais com mediana da idade de seguimento de 5,5 meses.

## **8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ADAMS, O.; KREMPE, C.; KÖGLER, G.; WERNET, P.; SCHEID, A. Congenital infections with human herpesvirus 6. **J Infect Dis.**, v. 178, p. 544-546, 1998.

ALBRIGHT, A.V.; LAVI, E.; BLACK, J. B.; GOLDBERG, S.; O'CONNOR, M. J.; GONZÁLEZ-SCARANO, F. The effect of human herpesvirus-6 (HHV-6) on cultured human neural cells: oligodendrocytes and microglia. **J. Neurovirol.**, v. 4, n. 5, p. 486-494, 1998.

ALFORD, C. A.; STAGNO, S.; PASS, R. F.; BRITT, W. J. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. **Rev Infect Dis.**, v. 12, p. S745-53, 1990.

ASANO, Y.; NAKASHIMA, T.; YOSHIKAWA, T.; SUGA, S.; YAZAKI, T. Severity of human herpesvirus-6 viremia and clinical findings in infants with exanthem subitum. **J Pediatr.**, v. 118, p. 891-895, 1991.

ASHSHI, A. M.; COOPER, R. J.; KLAPPER, P. E.; AL-JIFFRI, O.; MOORE, L. Detection of human herpes virus 6 DNA in fetal hydrops. **The Lancet**, v. 355, April, n. 29, p. 1519-1520, 2000.

BLACK, J. B.; DURIGON, E.; KITE-POWELL, K.; SOUZA, L.; CURLI, S. P.; AFONSO, A. M. S.; THEOBALDO, M.; PELLETT, P. E. Seroconversion to human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 among brazilian children with clinical diagnoses of measles or rubella. **Clin. Infect. Dis.**, v. 23, p. 1156-1158, 1996.

BLACK, J. B.; SANDERLIN, K. C.; GOLDSMITH, C. S., GARY, H. E., LOPEZ, C.; PELLETT, P. E. Growth properties of human herpesvirus-6 strain Z29. **J. Virol. Methods.**, v. 26, p. 133-145, 1989.

BOPPANA, S. B.; PASS, R. F.; BRITT, W. J., STAGNO, S.; ALFORD, C. A. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. **Pediatr Infect Dis**, v. 11, p. 93-99, 1992.

BOPPANA, S. B.; RIVERA, L. B.; FOWLER, K. B.; MACH, M.; BRITT, W. J. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. **N Engl J Med.**, v. 344, p. 1366-1371, 2001.  
CAMPADELLI-FIUME, G.; MIRANDOLA, P.; MENOTTI, L. Human herpesvirus 6: an emerging pathogen. **Emerg Infect Dis.**, v. 5, p. 353-366, 1999.

CARUSO, A.; ROTOLA, A.; COMAR, M.; FAVILLI, F.; GALVAN, M.; TOSETTI, M.; CAMPELLO, C.; CASELLI, E.; ALESSANDRI, G.; GRASSI, M.; GARRAFA, E.; CASSAI, E.; DI LUCA, D. HHV-6 infects human aortic and heart microvascular endothelial cells, increasing their ability to secrete proinflammatory chemokines. **J. Med. Virol.**, v. 67, n.4, p. 528-533, 2002.

CASERTA, M. T.; HALL, C. B.; SCHNABEL, K.; McINTYRE, K. M.; LONG, C.; COSTANZO, M.; DEWHURST, S.; INSEL, R.; EPSTEIN, L. G. Neuroinvasion and persistence of human herpesvirus 6 in children. **J Infect Dis.**, v. 170, p. 1586-1589, 1994.

CHEN, M.; POPESCU, N.; WOODWORTH, C.; BERNEMAN, Z.; CORBELLINO, M.; LUSSO, P.; ABLASHI, D. V.; DIPAOLO, J. A. Human herpesvirus 6 infects cervical epithelial cells and transactivates human papillomavirus gene expression. **J. Virol.**, v. 68, n. 2, p. 1173-1178, 1994.

CHUA, K. B.; KHAIRULLAH, N. S.; HOOL, P. S. Seroepidemiology of human herpesvirus 6 in a population seen in the University Hospital, Kuala Lumpur, Malaysia. **J Trop Med Public Health.**, v. 27, p. 91-95, 1996.

CLARK, D. A. ; NACHEVA, E. P. ; LEONG, H. N. ; BRAZMA, D. ; LI, Y. T.; TSAO, E. H. ; BUYCK, H. C. ; ATKINSON, C. E.; LAWSON, H. M., POTTER, M. N.; GRIFFITHS, P. D. Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. **J Infect Dis.** v. 193, n. 7, p. 912-916, 2006.

COLLOT, S.; PETIT, B.; BORDESSOULE, D.; ALAIN, S.; TOAUTI, M.; DENIS, F.; RANGER-ROGEZ, S. Real-time PCR for quantification of human herpesvirus 6 DNA from lymph nodes and saliva. **J Clin Microbiol.**, v. 40, p. 2445-2451, 2002.

CONE, R. W.; HUANG, M. W.; ASHLEY, R.; COREY, L. Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. **J Clin Microbiol.**, v. 31, n. 5, p. 1262-1267, 1993.

DAHL, H.; FJAERTOFT, G.; NORSTED, T.; WANG, F.; MOUSAVI-JAZI, M.; LINDE, A. Reactivation of human herpesvirus 6 during pregnancy. **J Infect Dis.**, v. 180; p. 2035-2038, 1999.

DAIBATA, M.; TAGUCHI, T.; NEMOTO, Y.; TAGUCHI, H.; MIYOSHI, I. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. **Blood**, v. 94, n. 5, p. 1545-1549, 1999.

DE BOLLE, L.; NAENSES, L.; DE CLERCQ, E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 18, n. 1, p. 217-245, 2005.

DEJEAN- GAUTHERET, A.; AUBIN, J. T.; POIREL, L.; HURAU, J.M.; NICOLAS, J. C.; ROZENBAUM, W.; AGUT, H. Detection of Human *Betaherpesvirinae* in Saliva and Urine from Immunocompromised and Immunocompetent Subjects. **J Clin Microbiol.**, v. 35, n. 6, p. 1600-1603, 1997.

DEWHURST, S.; MC INTYRE, K.; SCHNABEL, K.; HALL, C. B. Human herpesvirus 6 (HHV-6) variant B accounts for the majority of symptomatic primary HHV-6 infections in a population of U.S. infants. **J Clin Microbiol.**, v. 31, p. 416-418, 1993.

DI LUCA, D.; MIRANDOLA, P.; RAVAIOLI, T.; DOLCETTI, R.; FRIGATTI, A.; BOVENZI, P.; SIGHINOLFI, L.; MONINI, P.; CASSAI, E. Human herpesviruses 6 and 7 in salivary glands and shedding in saliva of healthy and human immunodeficiency virus positive individuals. **J Med Virol.**, v. 45, p. 462-468, 1995.

DOMINGUEZ, G.; DAMBAUGH, T. R.; STAMEY, F. R.; DEWHURST, S.; INOUE, N.; PELLETT, P. E. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. **J Virol.**, v. 73, n. 10, p. 8040-8052, 1999.

FOWLER, K. B.; PASS, R. F. Risk factors for congenital cytomegalovirus infection in the offspring of young women: exposure to young children and recent onset of sexual activity. **Pediatrics.**, v. 118, n. 2, p. 286-292, 2006.

FOWLER, K. B.; STAGNO, S.; PASS R. F. Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn populations, 1980-1990. **J Infect. Dis.**, v. 168, n. 3, p. 552-556, Sep, 1993.

FOWLER, K. B.; STAGNO, S.; PASS, R. F. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. **JAMA.**, v. 289, p. 1008-1011, 2002.

FOX, J. D.; BRIGGS, M.; WARD, P. A.; TEDDER, R. S. Human herpesvirus 6 in salivary glands. **Lancet.**, v.336, p. 590-593, 1990.

FREITAS, R. B.; LINHARES, A. C. Prevalence of human herpesvirus 6 antibody in the population of Belém, Pará, northern Brazil. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 6, p. 538-540, 1997.

FREITAS, R. B.; LINHARES, A. C.; OLIVEIRA, C. S.; GUSMÃO, R. H. P.; LINHARES, M. I. S. Association of human herpesvirus 6 infection with exanthema subitum in Belem, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 37, n. 6, p. 489-492, 1995.

FREITAS, R. B.; LINHARES, M. I.; LINHARES, A. C. Prevalence of human herpesvirus 6 antibody among isolated Amazonian Amerindian communities in Brazil. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 88, p. 167-169, 1994.

FREITAS, R. B.; MONTEIRO, T. A. F; LINHARES, A. C. Outbreaks of Human-Herpesvirus 6 (HHV-6) infection in day-care centers in Belém, Pará, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 42, n. 6, p. 305-311, 2000.

GRIVEL, J. C. ; SANTORO, F.; CHEN, S.; FAGÁ, G.; MALNATI, M. S.; ITO, Y.; MARGOLIS, L.; LUSSO, P. Pathogenic effects of human herpesvirus 6 in human lymphoid tissue ex vivo. **J. Virol.**, v. 77, n. 15, p. 8280-8289, 2003.

HALL, C. B.; CASERTA, M. T.; SCHNABEL, K. C.; BOETTRICH, B. A.; MC DERMOTT, M.P.; LOFTHUS, G. K.; CARNAHAN, J. A.; DEWHURST, S. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7). **J Pediatr.**, v. 145, n. 4, p. 472-477, 2004.

HALL, C. B.; CASERTA, M. T.; SCHNABEL, K. C.; LONG, C.; EPSTEIN, L. G.; INSEL, R. A.; DEWHURST, S. Persistence of human herpesvirus 6 according to site and variant: possible greater neurotropism of variant A. **Clin. Infect. Dis.**, v. 26, n. 1, p. 132-137, 1998.

HALL, C. B.; CASERTA, M. T.; SCHNABEL, K.; SHELLEY, L. N.; MARINO, A. S.; CARNAHAN, J. A.; YOO, C.; LOFTHUS, G. K.; MC DERMOTT, M. P. Chromosomal integration of human herpesvirus 6 is the major mode of congenital human herpesvirus 6 infection. **Pediatrics**, v. 122, n. 3, sept., p. 513-520, 2008.

HALL, C. B.; LONG, C. E.; SCHNABEL, K. C.; CASERTA, M.T.; MC INTYRE, K.M.; CONSTANZO, M.A., KNOTT, A., DEWHURST, S.; INSEL, R. A.; EPSTEIN, L. G. Human herpesvirus 6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. **N Engl J Med.**, v. 331, p. 432-438, 1994.

HE, J.; MC CARTHY, M.; ZHOU, Y.; CHANDRAN, B.; WOOD, C. Infection of primary human fetal astrocytes by human herpesvirus 6. **J. Virol.**, v. 70, n. 2, p. 1296-1300, 1996.

KAKIMOTO, M.; HASEGAWA, A.; FUJITA, S.; YASUKAWA, M. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection. **J. Virol.**, v. 76, n. 20, p.10338-10345, 2002

KUSUHARA, K.; UEDA, K.; MIYAZAKI, C.; OKADA, K.; TOKUGAWA, K. Attack rate of exanthem subitum in Japan. **Lancet**, v. 340, p. 482, 1992.

LANARI, M.; PAPA, I.; VENTURI, V.; LAZZAROTTO, T.; FALDELLA, G.; GABRIELLI, L.; GUERRA, B.; LANDINI, M. P.; SALVIOLI, G. P. Congenital infection with human herpesvirus 6 variant B associated with neonatal seizures and poor neurological outcome. **J Med Virol.**, v. 70, p. 628-632, 2003.

LEACH, C. T.; NEWTON, E. R.; MC PARLIN, S.; JENSON, H. B. Human herpesvirus 6 infection of the female genital tract. **J Infect Dis.**, v.169, p.1281-1283, 1994.

LEONG, H. N.; TUKE, P. W.; TEDDER, R. S.; KHANOM, A. B.; EGLIN, R. P.; ATKINSON, C. E.; WARD, K. N.; GRIFFITHS, P. D.; CLARK, D. A. The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors. **J Med Virol.**, v. 79, n. 1, p. 45-51, 2007.

LINHARES, M. I. S.; EIZURU, Y.; TATENO, S.; MINAMISHIMA, Y. Seroprevalence of human herpesvirus-6 infection in Brazilian and Japanese populations in the Northeast of Brazil. **Microbiol. Immunol.**, v. 35, p. 1023-1027, 1991.

LISZEWSKI, M. K.; POST, T. W.; ATKINSON, J. P. Membrane cofactor protein (MCP or CD46): newest member of the regulators of complement activation gene cluster. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 9, p. 431-455, 1991.



LUKA, J.; OKANO, M.; THIELE, G. Isolation of human herpesvirus-6 from clinical specimens using human fibroblast cultures. **J. Clin. Lab. Anal.**, v. 4, p. 483-486, 1990.

LUSO, P.; MALNATI, M. S.; GARZINO-DEMO, A.; CROWLEY, R. W.; LONG, E. O.; GALLO, R. C. Infection of natural killer cells by human herpesvirus 6. **Nature**, v. 362, p.458-462, 1993.

MAEDA, T.; OKUNO, T.; HAYASHI, K.; NAGATA, M.; UEDA, M.; TERASHIMA, K.; KAWASHIMA, T.; MIYAMOTO, H.; MORI, T.; YAMADA, Y. Outcomes of infants whose mothers are positive for human herpesvirus-6 DNA within the genital tract in early gestation. **Acta Paediatr Jpn.**, v. 39, p. 653-657, 1997.

McELHINNEY L.M.; COOPER R.J.; MORRIS, D.J. Multiplex polymerase chain reaction for human herpesvirus 6, human cytomegalovirus and human  $\beta$ -globin DNA. **J Virol Methods.**, n.2-3, v.53 , p. 223-233, 1995.

MORI, Y.; YANG, X.; AKKAPAIBOON, P.; OKUNO, T.; YAMANISHI, K. Human herpesvirus 6 variant A glycoprotein H-glycoprotein L-glycoprotein Q complex associates with human CD46. **J. Virol.**, v. 77, p. 4992-4999, 2003.

[MUSSI-PINHATA, M. M.](#); [YAMAMOTO, A. Y.](#); [BRITO R. M. B.](#); [LIMA, I. M.](#); [OLIVEIRA P. F. C.](#); [BOPANA S.](#); [BRITT, W. J.](#) Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus infection in a highly seroimmune population. **Clin Infect Dis.**, v.49, p.522-528, 2009.

OHASHI, M.; YOSHIKAWA, T.; IHIRA, M.; SUZUKI, K.; SUGA, S.; TADA, S.; UDAGAWA, Y.; SAKUI, H.; IIDA, K.; SAITO, Y.; NISIYAMA, Y.; ASANO, Y. Reactivation of human herpesvirus 6 and 7 in pregnant women. **J Med Virol.**, v. 67, p. 354-358, 2002.

OKUNO, T.; OISHI, H.; HAYASHI, K.; NONOGAKI, M.; TANAKA, K.; YAMANISHI, K. Human herpesviruses 6 and 7 in cervixes of pregnant women. **J Clin Microbiol.**, v. 33, p. 1968-1970, 1995.

PASS, R.F. HHV-6 and HHV-7: Persistence and vertical transmission. **J Pediatr.**, v. 145, p. 432-435, 2004.

PASS, R. F.; LITTLE, E. A.; BRITT, W. J.; ALFORD, C. A. Young children as a probable source of maternal and congenital cytomegalovirus infection. **N Engl J Med.** v. 316, p. 1366-1370, 1987.

PELLETT, P. E.; DOMINGUEZ, G. Human Herpesviruses 6A, 6B and 7 and their replication. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, v. 2, cap. 80, p. 2769-2784, 2001.

PENFOLD, M. E. T.; ARMATI, P.; CUNNINGHAM, A. L. Axonal transport of herpes simplex virions to epidermal cells: Evidence for a specialized mode of virus transport and assembly. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 91, p. 6529-6553, Jul., 1994.

PEREIRA, C. M.; GASPARETO, P. F.; CORRÊA, M. E. P.; COSTA, F. F.; ALMEIDA, O. P.; BARJAS-CASTRO, M. L. Human herpesvirus 6 in oral fluids from healthy individuals. **Arch. Oral Biol.**, v. 49, p. 1043-1046, 2004.

PORTOLANI, M.; CERMELLI, C.; MORONI, A.; BERTOLANI, M.F.; DI LUCA, D.; CASSAI, E.; SABBATINI, A. M. Human herpesvirus-6 infections in infants admitted to hospital. **J. Med. Virol.**, v. 39, n. 2, p. 146-151, 1993.

PREECE, P. M.; TOOKEY, P.; ADES, A.; PECKHAM, C. S. Congenital cytomegalovirus infection: predisposing maternal factors. **J Epidemiol Community Health**, v. 40, p. 205-209, 1986.

PRUKSANANONDA, P.; HALL, C. B; INSEL, R.A.; MC INTYRE, K.; PELLETT, P. E.; LONG, C. E.; SCHNABEL, K.C.; PINCUS, P. H.; STAMEY, F. R.; DAMBAUGH, T. R. et al. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. **N.Engl. J. Med.**, v. 326, p. 1445-1450, 1992.

RENTZ, A. C.; STEVENSON, J.; HYMAS, W.; HILLYARD, D.; STODDARD, G. J.; TAGGART, E. W.; BYINGTON, C. L. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, v. 26, p. 297-299, 2007.

ROSS, S. A.; BOPPANA, S. B. Congenital cytomegalovirus infection: outcome and diagnosis. **Semin Pediatr Dis**, v. 16, p. 44-49, 2004.

SALAHUDDIN, S. Z.; ABLASHI, D.V.; MARKHAM, P.D.; JOSEPHS, S. F.; STURZENEGGER, S.; KAPLAN, M.; HALLIGAN, G.; BIBERFELD, P.; WONG-STAAAL, F.; KRAMARSKY, B. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. **Science**, v. 234, p. 596-601, 1986.

SANTORO, F.; KENNEDY, P. E.; LOCATELLI, G.; MALNATI, M. S., BERGER, E.; LUSSO, P. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. **Cell**, v. 99, p. 817-827, 1999

STAGNO, S.; PASS, R. F; DWORSKY, M. E.; ALFORD, C. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. **Semin Perinatol**, v. 7, p. 31-42, 1983.

SUGA, S.; YOSHIKAWA, T.; KAJITA, Y.; OZAKI, T.; ASANO, Y. Prospective study of persistence and excretion of human herpesvirus-6 in patients with exanthem subitum and their parents. **Pediatrics**, v. 102, p. 900-904, 1998.

TAKAHASHI, K.; SONODA, S.; HIGASHI, K.; KONDO, T.; TAKAHASHI, H.; TAKAHASHI, M.; YAMANISHI, K. Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6 -related virus. **J. Virol.**, v. 63, n. 7, p. 3161-3163, 1989.

TANAKA-TAYA, K.; SASHIHARA, J.; KURAHASHI, H.; AMO, K.; MIYAGAWA, H.; KONDO, K.; OKADA, S.; YAMANISHI, K. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. **J Med Virol.**, v. 73, n. 3, p. 465-473, 2004.

TORELLI, G.; BAROZZI, P.; MARASCA, R.; COCCONCELLI, P.; MERELLI, E.; CECCHERINI-NELLI, L.; FERRARI, S.; LUPPI, M. Targeted integration of human herpesvirus 6 in the p arm of chromosome 17 of human peripheral blood mononuclear cells in vivo. **J Med Virol.**, v. 46, n. 3, p. 178-188, 1995.

WARREN, W. P.; BALCAREK, K.; SMITH, R.; PASS, R.F. Comparison of rapid methods of detection of cytomegalovirus in saliva with virus isolation in tissue culture. **J Clin Microbiol**, v. 30, p. 786-789, 1992.

WU, Z.; MU, G.; WANG, L. Seroprevalence of human herpesvirus-6 in healthy population in two provinces of north China. **J Chin Med Sci.**, v. 12, p. 111-114, 1997.

YAMAMOTO, A. Y.; MUSSI-PINHATA, M. M.; PINTO, P. C. G.; FIGUEIREDO, L. T. M.; JORGE, S. M. Congenital cytomegalovirus infection in preterm and full-term newborn infants from a population with a high seroprevalence rate. **Pediatr Infect Dis J**, v. 20, p. 188-192, 2001.

YAMANISHI, K.; MORI, Y.; PELLETT, P. E. Human Herpesviruses 6 and 7. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, v. 2, cap. 71, p. 2820-2846, 2007.

YAMANISHI, K.; OKUNO, T.; SHIRAKI, K.; TAKAHASHI, M.; KONDO, T.; ASANO, Y. ; KURATA, T. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. **Lancet.**, v. 1, p. 1065-1067, 1988.

YOSHIKAWA, T.; IHIRA, M.; FURUKAWA, H.; SUGA, S.; ASONUMA, K.; TANAKA, K.; ASANO, Y. Four cases of human herpesvirus 6 variant B infection after pediatric liver transplantation. **Transplantation**, v. 65, p. 1266-1269, 1998.

ZERR, D. M.; MEIER, A. S; SELKE, S. S.; FRENKEL, L. M.; HUANG, M. L.; WALD, A.; RHOADS, M. P.; NGUY, L.; BORNEMANN, R.; MORROW, R. A.; COREY, L. A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection. **N Engl J Med.**, v. 352, p. 768-776, 2005.

ZHAO, J.; FAN, H.; MU, G.; SHEN, X.; CHENG, X. Detection of human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA in salivary glands by the polymerase chain reaction. **Chin Med Sci J.**, v. 12, p. 126-128, 1997.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)