

ESTUDIO SOBRE INFECCIONES CONGENITAS Y PERINATALES

*Libia Herrero Uribe**, *Francisco Echeverría Batalla***, *Emma Zamora Segura**** y *Alberto Sáenz Pacheco***

RESUMEN

Se estudió 105 neonatos admitidos al Servicio de Neonatología y 36 niños mayores de 1 a 24 meses que ingresaron a otros Servicios del Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica. Todos ellos presentaban uno o más signos de la sintomatología clásica del síndrome del TORCHS. En el 13,4 por ciento de los casos se detectó una etiología infecciosa. El agente más comúnmente aislado fue el citomegalovirus, en el 52,6 por ciento de los casos. Le siguió la toxoplasmosis, que se determinó por métodos serológicos en cinco pacientes (26,3%); y la sífilis ocupó el tercer lugar (15,5%), detectándose anticuerpos específicos en tres niños estudiados. La inmunoglobulina M específica para el virus de rubéola se detectó en sólo uno de los pacientes estudiados. La patología y/o signología presentada por los niños se dividió entre los pacientes con y sin etiología infecciosa. Se observó diferencias significativas entre los dos grupos en signos como la hepatoesplenomegalia, petequias, anemia, neumonía y microcefalia. Se discute las posibilidades de otras virosis como el sa-

rampión, paperas, varicela -zóster e influenza, como agentes etiológicos de problemas congénitos en Costa Rica. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1988; 9(1):7-15].

INTRODUCCION

La mujer embarazada usualmente está más expuesta a sufrir las infecciones prevalentes en la comunidad. Generalmente involucran al tracto respiratorio superior y al tracto gastrointestinal, pudiendo resolverse espontáneamente o con agentes antimicrobianos. Estas infecciones usualmente permanecen localizadas y no tienen efectos teratogénicos sobre el feto. En algunos casos, el microorganismo infectante puede producir una infección fetal por invasión hemática, o bien puede transmitirse transplacentariamente o por extensión de una infección adyacente, del peritoneo o de los genitales externos. (21) En épocas recientes, los métodos invasivos para el diagnóstico y tratamiento de los trastornos fetales, igual que el uso de monitores y transfusiones intrauterinas, pueden causar infecciones fetales. (5, 22, 29) La infección adquirida antes del nacimiento puede causar abortos, mortinatos, malformaciones, retraso en el crecimiento intrauterino, prematuridad y secuelas por infección postnatal crónica, o un recién nacido nor-

* Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica.

** Hospital Nacional de Niños;

*** Louisiana State University. Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento Médico (ICMRT). San José, Costa Rica.

mal. (21) Los efectos inmediatos, al igual que aquellos a largo plazo, representan un problema importante a nivel mundial. (18, 21) La incidencia de infecciones en el feto y el recién nacido son causa importante de morbi-mortalidad neonatal. (21) Varios trabajos (32, 39) han demostrado que el citomegalovirus (CMV) es el agente más común en las infecciones que afectan el feto, habiéndose determinado una incidencia de 5 a 15 casos por 1000 nacidos vivos. Le sigue la toxoplasmosis con 1.3 a 7 casos, la rubéola interepidémica con 0.2 a 0.5 casos y la sífilis con 0.1 casos por 1000 nacidos vivos (3,21). La rubéola y el CMV se asocian a prematuridad, retraso en el crecimiento intrauterino y bajo peso al nacer, anomalías del desarrollo, enfermedad congénita y a la infección postnatal persistente. (1, 10, 33) Al igual que la sífilis, el herpes simplex se asocia con prematuridad, enfermedad congénita e infección postnatal. A la toxoplasmosis se le asocian los tres anteriores, pero también puede ser una causa directa de bajo peso al nacer. (8,28) Las manifestaciones clínicas de las infecciones neonatales congénitas son variadas, y pueden ser compartidas por los diferentes agentes etiológicos, haciéndolas frecuentemente indistinguibles clínicamente entre sí. Por ende, el laboratorio es un elemento indispensable para el diagnóstico certero. (25) La gran mayoría de estas infecciones no tiene tratamiento, por lo que la prevención es sumamente importante. El objetivo de este trabajo fue determinar cuáles agentes son los más importantes en las infecciones intrauterinas en Costa Rica, para recomendar las medidas preventivas adecuadas.

MATERIAL Y METODOS

Se incluyó en el estudio a neonatos admitidos al Servicio de Neonatología del Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica, y a niños de 1 a 24 meses de edad, que ingresaron a otros servicios del hospital. Todos presentaban uno o varios de los siguientes signos: ictericia, hepatoesplenomegalia, púrpura, trombocitopenia, petequias, anemia, neumonía, microcefalia, retardo en el crecimiento intrauterino, calcificaciones intracraneanas, defectos oculares y malformaciones congénitas. Se estudió un total de 141 niños durante 12 meses.

Se tomó una muestra de orina para el estudio virológico y una de sangre para la detección de anticuerpos. El aislamiento del virus, la preparación de antígeno y la determinación de las inmunoglobulinas M y G específicas contra CMV en el suero de los pacientes fue descrita anteriormente (11).

Las determinaciones serológicas para detectar anticuerpos específicos contra toxoplasmosis y sífilis fueron llevadas a cabo por los laboratorios especializados del Hospital Nacional de Niños. La detección de inmunoglobulinas totales y IgM específica contra toxoplasmosis se realizó por medio de la técnica de inmunofluorescencia (23), mientras que el VDRL y la FTA para la sífilis se llevaron a cabo por los métodos convencionales (12, 35). Un juego de reactivos comerciales para la técnica de ELISA fue empleado para la detección de IgM contra rubéola (Rubeolisa) (27), y la inhibición de la hemaglutinación (34) para titular las inmunoglobulinas G.

Para la detección de la IgM contra el antígeno "core" del virus de la hepatitis

B, se utilizó la técnica de ELISA descrita por Roggendorf y col. (26)

Todas las pruebas citadas fueron realizadas en todos los pacientes estudiados.

RESULTADOS

Se logró determinar la etiología infecciosa en el 13,4 por ciento de los casos, siendo el CMV el agente más comúnmente encontrado (52,6%). Le siguió *T. gondii* y *Treponema pallidum* ocupó el tercer lugar. La inmunoglobulina M específica para el virus de la rubéola se detectó en sólo uno de los pacientes, y no se detectó IgM anti "core" contra el virus de la hepatitis B (Cuadro 1).

La patología y la signología presentada por los niños estudiados se dividió entre los pacientes con y sin etiología infecciosa, como se muestra en el Cuadro 2. Como se puede observar, hay diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a ciertos signos clínicos, como lo son la hepatoesplenomegalia, petequias, anemia y neumonías. También se notó una importante diferencia en la microcefalia, ya que el 33,3 por ciento de los pacientes con infecciones presentó microcefalia. En contra posición, sólo el 2,4 por ciento de los niños sin agentes infecciosos detectados presentó este signo (Cuadro 2). La descripción clínica de cada uno de los casos estudiados, no se incluye en este trabajo por no presentar características diferentes a las ya descritas en la literatura científica. Las malformaciones congénitas gastrointestinales fueron las más comunes, presentándose en el 32,5 por ciento de los niños sin etiología infecciosa. Ningún caso fue observado en aquellos niños con etiología infeccio-

sa. La ictericia se presentó en un 58,5 por ciento de los casos sin etiología infecciosa y en un 22,2 por ciento en aquellos en que se demostró algún agente, fenómeno que concuerda con la realidad, ya que otros procesos patológicos no infecciosos producen ictericia en el paciente.

Características de las madres con niños sintomáticos:

Hubo un 89 por ciento de seropositivas para CMV y un 98,5 por ciento para el virus de la rubéola con un promedio geométrico de 1/110. No se detectó IgM anti "core" para el virus de la hepatitis B en el suero de los neonatos, lo que sugiere que no hubo infección activa durante el período intrauterino. Este estudio incluyó niños de todo el país, ya que el Hospital de Niños es un centro de referencia nacional. Aún así, el 43,2 por ciento de ellos provenía de la capital.

DISCUSION

En los últimos años, las enfermedades congénitas y perinatales se han convertido el primer lugar como causa de morbimortalidad en los niños menores de 1 año, en Costa Rica (2). Una de las razones fundamentales para explicar este hecho ha sido el mejoramiento en la calidad de la vida en general, lo que se ha logrado por medio de los programas de salud y la cobertura de los programas de vacunación. Así se ha logrado erradicar algunas enfermedades importantes en salud pública (20). Los agentes etiológicos que han sido implicados en problemas congénitos y perinatales siguen siendo poco

conocidos, aunque es bien sabido que los problemas genéticos e infecciosos son muy importantes. Entre estos últimos, hay varios tipos de virus implicados en estas dolencias (15, 30, 31, 39). Entre las diferencias fundamentales encontradas entre los niños en quienes se demostró una etiología infecciosa, fue la microcefalia, que se presentó en el 33 por ciento de los niños con infecciones comprobadas, en contra de un 2,4 por ciento de los pacientes sin etiología infecciosa. La microcefalia se puede ver en infecciones por CMV, toxoplasmosis y herpes. Sin embargo, tiene especial valor diagnóstico para el CMV. (4, 38) Weller y Hanshaw en 1962 (38) la reportaron en 14 de 17 pacientes, y Maedearis en 1964 (16) en todos los pacientes que estudió. Por otro lado, la hepatoesplenomegalia, petequias, anemia y neumonía fueron signos que se presentaron en un mayor porcentaje en los niños con etiología infecciosa, que en aquellos en quienes no se demostró una infección.

La historia natural de la rubéola en Costa Rica revela un comportamiento de tipo endémico, especialmente después de la introducción del programa de vacunación a partir de 1973, momento desde el cual se ha reportado un promedio de 170 casos al año (19). Los estudios serológicos previos han demostrado una susceptibilidad de alrededor del 23 por ciento y más en mujeres de edad fértil (7, 24, 36). Sin embargo, en este trabajo se encontró una susceptibilidad del 2,7 por ciento, lo cual concuerda bien con el hallazgo de un solo caso de rubéola congénita. Muchos otros virus han sido implicados en producir malformaciones congénitas, tales como el sarampión, varicela-zoster (VZ), Epstein Barr (EB),

papera, influenza, enterovirus y otros. (9, 13, 15, 18, 39). En dos estudios prospectivos de varios miles de mujeres embarazadas, realizados en Inglaterra y Nueva York, los autores (15, 31) llegaron a varias conclusiones. Se encontró un número mayor de prematuros en el grupo de madres que sufrieron virosis (VZ, EB, sarampión, hepatitis B y rubéola) durante el embarazo. Se obtuvo un número mayor de muertes fetales en ese mismo grupo de mujeres, pero no encontraron una asociación directa entre las virosis mencionadas y las malformaciones congénitas, con excepción del virus de la rubéola. Se ha sugerido que el virus de VZ y EB son causantes de malformaciones congénitas, pero hay muy pocos casos bien documentados (9, 17). Los expertos en la materia recomiendan no incluir el estudio de estos agentes en la valoración de rutina, para problemas congénitos. Sin embargo, puede considerarse la evaluación por el virus de Epstein Barr si se observa un "síndrome" típico en un recién nacido, especialmente con una linfocitosis atípica persistente y sin causa documentada. (9)

La influenza epidémica sigue siendo controversial en su efecto patogénico en el feto (14). Ha sido incriminado en un aumento de pérdida fetal y anormalidades en el feto (13). Por otro lado, diferentes investigadores han observado una incidencia aumentada en diferentes tipos de cáncer en aquellos niños nacidos de madres que sufrieron influenza durante el embarazo (3). Existen dudas en la actualidad, y por lo tanto, se hace imprescindible un estudio controlado de una cohorte de mujeres que hayan sufrido una influenza durante el embarazo, y el seguimiento de sus hijos. En el caso de Costa Rica,

las paperas no parecen ser un riesgo importante, ya que desde 1982 no se ha reportado epidemias, y el promedio de casos al año ha sido alrededor de 273 (19). Claro está que se debe recordar que los ciclos epidémicos de esta enfermedad se dan desde 2 a 3 años hasta 7 años, según lo reportado en otros países (6). Por otro lado, debido a la amplia cobertura de vacunación que tiene el país (15), en los últimos cuatro años se ha reportado un promedio de 52 casos de sarampión anuales (19). Sin embargo, durante los años 1986 y 1987 se desató una epidemia, probablemente debido a un incremento en el número de susceptibles. Sería importante, después de cada epidemia por estos virus, hacer un estudio después de los 9 meses de haberse iniciado los primeros casos, para ver si hay un aumento en niños con bajo peso al nacer, ya que como se mencionó anteriormente, están más asociados a este fenómeno que a malformaciones congénitas.

La toxoplasmosis congénita es el resultado de una infección aguda, pero usualmente subclínica, de la madre durante el embarazo. Los estudios de Sabin et al (28) y otros autores (3, 37) han demostrado que las madres no producen niños con toxoplasmosis congénita en los embarazos subsiguientes. No obstante, no excluyen la excepción a la regla, es decir que si ocurriera sería un evento muy raro. Esto significa que si se previene la infección primaria durante el embarazo, la toxoplasmosis podría ser erradicada. El período de seroconversión más activo para la toxoplasmosis en Costa Rica es durante los primeros quince

años de vida (8) y alcanza casi el 60 por ciento de seropositivos. Frenkel y Ruiz (8) determinaron una seroconversión de alrededor del 15 por ciento en mujeres de 15 a 26 años, el grupo precisamente sujeto a la máxima susceptibilidad para producir una toxoplasmosis congénita.

El CMV es la causa más frecuente de infecciones congénitas (32, 33, 39) y esto se logró demostrar también para Costa Rica (11). La infección intrauterina por este virus es muy importante desde el punto de vista de salud pública, ya que ocurren secuelas graves como lo son el retardo en el crecimiento sicomotor, sordera, reducción de la inteligencia, dificultad de aprendizaje, problemas de comportamiento y otros (32,39). Así como en el caso de la Varicela-Zoster, no se justifica la inmunización generalizada para evitar efectos indeseables en el feto. Sí se justifica, y se hace imprescindible, la búsqueda de una vacuna eficaz que prevenga al CMV de causar daños tan severos e irreparables en la infancia y madurez del individuo. El problema fundamental sería cuándo aplicarla, ya que, si como se propuso en un trabajo anterior (11), la mayoría de los problemas de defectos congénitos son por reactivación del virus en la madre durante el embarazo, y no por primoinfección. La cepa vacunal debería no reactivarse ni permitir las reinfecciones por el virus; además debería aplicarse en la infancia, ya que la primoinfección en Costa Rica se demostró que ocurre a muy temprana edad (11), para así poder proteger a las generaciones futuras.

CUADRO 1
ETIOLOGIA INFECCIOSA EN LOS
141 NIÑOS ESTUDIADOS

| Agente | Número de niños | Porcentaje |
|-----------------|-----------------|--------------|
| Citomegalovirus | 10 | 52,6 |
| Toxoplasmosis | 5 | 26,3 |
| Sífilis | 3 | 15,5 |
| Rubéola | 1 | 5,2 |
| TOTAL | 19 | 100,0 |

CUADRO 2
PATOLOGIA Y SIGNOLOGIA PRESENTE
EN LOS NIÑOS EN ESTUDIO (%)

| Patología y Signología | Niños CON | Niños SIN |
|-----------------------------|----------------------|-----------|
| | Etiología Infecciosa | |
| Ictericia | 22,2 | 58,5 |
| Hepatoesplenomegalia (*) | 55,5 | 13,8 |
| Petequias (*) | 38,8 | 2,4 |
| Púrpura Trombocitopénica | 38,8 | 25,2 |
| Anemia (*) | 61,1 | 13,0 |
| Neumonía (*) | 44,4 | 11,4 |
| Cardiopatías | 11,1 | 15,4 |
| Problemas oculares | 26,3 | 8,1 |
| Malf. gastrointestinales | 0 | 32,5 |
| Malf. musculoesqueléticas | 11,1 | 27,7 |
| Retardo crecimiento uterino | 22,2 | 32,0 |
| Microcefalia (*) | 33,3 | 2,4 |
| Crecimiento uterino normal | 22,2 | 36,6 |

(*) = La diferencia es significativa a un nivel de significancia del 5%, (χ^2) mayor a 3,84. (Prueba del Chi cuadrado).

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó gracias al financiamiento a 430-8440 otorgado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Agradecemos al personal del Laboratorio de Virología de INCIENSA por su valiosa colaboración, ya que los estudios virológicos y de serología de rubéola (IgG) fueron realizados en su laboratorio por un convenio con la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

ABSTRACT

One hundred and forty one newborn children presenting one or more signs of the symptomatology of the TORCHS syndrome were studied. Infectious etiology was determined in 13.6 per cent of the children. Citomegalovirus was the most common agent isolated (52.6%). Toxoplasmosis (26.3%) and syphilis (15.5%) were the second and third agents serologically determined, and in only one case IgM specific antibody for Rubella was detected (5.2%). The clinical aspects of those patients with infectious and non infectious etiology are presented. The possibilities of other viruses as agents of congenital diseases in Costa Rica are discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. Alford, C.A., Jr., Neva, F.A. y Weller, T.H.: Virologic and serologic studies on human products of conception after maternal rubella. *New Engl. J. Med.*:1964; 271:1275.
2. Barrantes, R. Las Malformaciones Congénitas en Costa Rica. I. Mortalidad, Registro y Vigilancia. *Acta Med. Cost.* 1980; 23:119-131.
3. Butler, N.R. The epidemiological approach to intrauterine infections. En: *Intrauterine Infections*. Ciba Foundation Symposium 10. (New Series) 1974; 151-163.
4. Caffey, J. Pediatric X Ray Diagnosis. Chicago, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1973; 285-292.
5. Cordero, J. Jr., y Han, E.H.: Scalp Abscess: a rare complication of fetal monitoring. *J. Pediatr.* 1971; 78:53.
6. Feldman, H.A. Mumps. En: *Viral Infections in Humans*. Ed. Evans, A.S. John Wiley and Sons, London, 1976; 317-332.
7. Fuentes, L.G. Inmunidad a la rubéola en estudiantes admitidas en 1973 a la Universidad de Costa Rica. *Acta Med. Cost.* 1973; 16:253-260.
8. Frenkel, J.K. y Ruíz, A. Endemicity of Toxoplasmosis in Costa Rica. Transmission between cats, soil, intermediate hosts and humans. *Am. J. Epidemiol.* 1981; 113:254-269.
9. Goldberg, G.N., Fulginiti, V.A., Ray, G., Ferry, P., Jones, J.F., Cross, H. y Minnich, L. In Utero Epstein-Barr Virus Infection. *JAMA* 1981; 246:1579-1580.
10. Hayes, K. y Gibas, H.: Placental cytomegalovirus infection without fetal involvement following primary infection in pregnancy. *J. Pediatr.* 1971; 79:401-405.
11. Herrero, L., Zamora, E., Echeverría, F. y Sáenz, A. Infección Citomegálica del Recién Nacido. *Rev. Cost. Cienc. Med.* 1986; 7:137-142.
12. Hunter, E.F., McKinney, R.M., Maddison, S.E. y Cruce, D.D. Double staining procedure for the fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) test. *Br. J. Vener. Dis.* 1979; 55:105-108.
13. Karkinen-Jaaskenlainen, M. y Saxen, L. Maternal influenza, drug consumption and congenital defects of the central nervous system. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1974; 118:815-818.

14. MacKenzie, J.S. y Houghton, M. Influenza infections during pregnancy: Association with congenital malformations and with subsequent neoplasms in children and potential hazards of live virus vaccines. *Bacteriol Rev.* 1974; 38; 356-370.
15. Manson, M.M., Logan, W.P.D. y Loy, R.M. Rubella and other Virus Infections during Pregnancy. 101, Ministry of Health Reports on Public Health and Medical Subjects, Her Majesty's Stationary Office, 1960.
16. Medearis, D.N.Jr. Observations concerning human cytomegalovirus infection and disease. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 1964; 114:181—211.
17. McKendry, J.B.J. y Bailey, J.D. Congenital Varicella associated with multiple defects. *C.M.A. Journal* 1973; 108:66-67.
18. Mims, C.A.: Aspects of the pathogenesis of viral disease. *Bact. Rev.* 1964; 28:30.
19. Ministerio de Salud, San José, Costa Rica. Semana Epidemiológica, volúmenes 10 a 15, de 1982 a 1986.
20. Mohs, E. Acute respiratory infections in children: Possible Control Measures. *Bull Pan Am Health Organ.* 1985; 19:82-87.
21. Nahmias, A.J.: The TORCH Complex. *Hosp. Pract.* 1974 (mayo): 65-79.
22. Overturf, G.D. y G.D. y Balfour, G.: Osteomyelitis and sepsis: severe complication of fetal monitoring. *Pediatrics* 1975; 55:244-247.
23. Palmer, D.F., Cavallaro, J.J., Herrmann, K., Stewart, J.A. y Walls, K.W. Serodiagnosis of: Toxoplasmosis, rubella, cytomegalic inclusion disease, herpes simplex. Immunology Series N° 5 Procedural Guide. Department of Health, Education, and Welfare. 1977; 2-22
24. Ramírez. J. A., León. E.M., Torres, E., Carrillo, W.D. y Sandí, V. Seroepidemiología de la rubéola en mujeres costarricenses de edad fértil. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 1985; 6:1-8.
25. Remington. K. Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant. Saunders, New York, 1976; 9-18.
26. Roggendorf M., Deinhart, F., Frosner, G.G., Sheid. R. Bayeri. B., Zchoval. R. Immunoglobulin M. antibodies to hepatitis B core antigen: Evaluation of enzyme immunoassay for diagnosis of hepatitis B virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 1981; 13:618-626.
27. Rubelisa gamma M. Whittaker M.A. Bioproducts, catalogo N° 30-330U.
28. Sabin, A.B., Eichenwald, H., Feldman, H.A., Jacobs. L Present status of clinical manifestations of Toxoplasmosis in man: indications and provisions of routine serologic diagnosis. *JAMA* 1952; 150:1063-1069.
29. Sever, J.L. & White, L.R. Intrauterine viral infections. *Ann. Rev. Med.* 1968; 19:471-486.
30. Siegel, M. y Fuerst, H.T. Comparative Fetal Mortality in Maternal Virus Diseases: A Prospective Study on Rubella, Measles, Mumps, Chickenpox and Hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1966; 274:768-771.
31. Siegel, M. y Fuerst, H.T. Low Birth Weight and Maternal Virus Diseases. A prospective study of Rubella, Measles, Mumps, Chickenpox and Hepatitis. *JAMA* 1966; 197:88-92.
32. Stagno, S., Pass, R. F., Dworsky, M.E., Henderson, R.E., Moore, E.G. Walton, P.D. y Alford, C.A. Congenital Cytomegalovirus infection: the relative importance of primary and recurrent maternal infection. *N. Engl. J. Med.* 1982; 306:945-949.
33. Stagno, S. Cloud. G. Pass. R.F., Britt, W.J. y Alford, C. A. factor associated with primary Cytomegalovirus infection during pregnancy. *J. Med. Virol.* 1984; 13:347-353.
34. Stewart, G.L., Parkman. P.D., Hopps. H.E., Douglas, R.D., Hamilton, J.P. y Meyer, H.M. Jr. Rubella virus hemagglutination-inhibition.

35. U.S. Department of Health, Education, and Welfare. National Communicable Disease Center, Venereal Disease Program. Manual of tests of syphilis. Center for Disease Control. Atlanta, 1969; 3-18.
36. Villarejos, V.M. Arguedas-Gamboa. J.A., Vargas-Naar, O., y Cotes-Vargas, M.A. Estudio de efectividad y seguridad de la vacuna contra la rubéola. *Bol. Ofic. Sanit. Panamer.* 1971; 70:174-180.
37. Walton, B.C. Toxoplasmosis seroepidemiology In: Annual Progress Report FY 1967. US Army Medical Research Unit, Panama. Alexandria, VA: Defense Documentation Center, 1986; 26 y Cuadros 1-2, Figuras 1-4.
38. Weller, T.H. y Hanshaw, J.B. Virological and Clinical observations of cytomegalic inclusion disease. *N. Engl. J. Med.* 1962; 266:1233-1234.
39. Weller, T.H. The Cytomegaloviruses: ubiquitous agents with protean clinical manifestations. *N. Engl. J. Med.* 1971; 285:203-214.