

## PESQUISA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS EB EM ADULTOS E CRIANÇAS

J. A. N. CANDEIAS<sup>(1)</sup> e M. S. PEREIRA<sup>(2)</sup>

### RESUMO

Uma pesquisa de anticorpos para o vírus EB feita por imunofluorescência indireta, em crianças de ambos os sexos e adultos do sexo feminino, da cidade de São Paulo, evidenciou diferentes porcentagens de positividade, conforme os grupos etários. No grupo de crianças a porcentagem média de positividade foi de 41,6%, enquanto nos adultos esta porcentagem sofreu aumento para 87,5%. Nestes não se observaram diferenças significativas entre os diferentes grupos etários, desde 15 a 40 anos. Já nas crianças pôde notar-se um aumento significativo do grupo de 0 a 3 anos, com 25,7% de positividade, 3 a 6 anos, com 55,5% até 6 a 9 anos, em que a positividade foi de 69,2%. Nas crianças do sexo feminino a porcentagem média de positivos foi de 33,8%, contra 48,6% no sexo masculino, diferença esta não significante estatisticamente.

### INTRODUÇÃO

Os estudos epidemiológicos sobre a mononucleose infecciosa atingiram uma nova fase de desenvolvimento com a observação feita, pela primeira vez, por HENLE & col.<sup>12</sup>, relativa à existência de uma correlação significativa entre o desenvolvimento e persistência de anticorpos para o vírus EB e aquele quadro clínico. Este vírus foi encontrado por EPSTEIN & col.<sup>3</sup> em culturas contínuas de linfoblastos obtidos de fragmentos de linfoma de Burkitt por EPSTEIN & BARR<sup>4</sup>. Depois do trabalho de HENLE & col.<sup>12</sup>, numerosos Autores vieram confirmar e ampliar suas observações (EVANS<sup>5</sup>; EVANS & col.<sup>6</sup>; GERBER & col.<sup>7</sup>; NIEDERMAN & col.<sup>18,19</sup>). Têm sido encontrados, em amostras de sôro de indivíduos normais, anticorpos para o vírus EB (HENLE & HENLE<sup>10</sup>; LEVY & HENLE<sup>16</sup>; PEREIRA & col.<sup>20</sup>; PORTER & col.<sup>21</sup>; SVEDMYR & DEMISSIE<sup>22</sup>).

Com o presente trabalho apresentamos os resultados da pesquisa de anticorpos para o vírus EB, por imunofluorescência indireta, em soros de adultos e crianças da cidade de São Paulo, Brasil.

### MATERIAL E MÉTODOS

O total de 393 soros examinados, refere-se a um grupo de 137 crianças, de ambos os sexos, inscritas no Centro de Saúde da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da U.S.P. e a um grupo de 256 adultos do sexo feminino, sorteado de uma amostra de 784 soros utilizados em estudo sorológico feito, anteriormente, sobre o vírus da rubéola.

O sangue das crianças foi obtido por punção digital e, após separação do sôro, este foi diluído a 1:5 em solução salina fosfatada

Pesquisa realizada com auxílio parcial da Bólsa 68/810 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

- (1) Departamento de Microbiologia e Imunologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Brasil  
(2) Virus Reference Laboratory, Central Public Health Laboratory, London, England

tamponada (PBS); os soros de indivíduos adultos foram, igualmente, diluídos, a 1:5 em PBS. Estes foram inativados a 56°C, durante 30 minutos; os soros de crianças não foram inativados.

Na prova de imunofluorescência indireta utilizamos um conjugado de fluoresceína anti-IgG humana (Hyland Laboratories).

A linhagem de células EB<sub>3</sub> de tumor de Burkitt, cedida pelo Dr. M. A. Epstein, foi cultivada em meio basal de Eagle com 10% de sêro fetal bovino. Para a preparação das suspensões celulares, destinadas ao exame por imunofluorescência, as culturas de EB<sub>3</sub> foram mantidas, durante quatro dias, em meio basal de Eagle com 25% de sêro fetal bovino, meio este, previamente, conservado na estufa a 37°C, durante uma semana (HENLE & HENLE<sup>11</sup>; HINUMA & col.<sup>13</sup>).

As lamínulas para exame microscópico foram preparadas com uma gôta da suspensão celular concentrada por centrifugação a 500 R.P.M., durante 5 minutos, secas a 37°C, fixadas em acetona, durante 10 minutos e conservadas a -20°C, para utilização posterior.

O exame qualitativo dos soros de prova, cujos resultados se referem a uma diluição de 1:5, foi sempre acompanhado de controles de sêro positivo e sêro negativo.

## RESULTADOS

Nas Tabelas I e II apresentamos as taxas de positividade para o vírus EB, segundo os diversos grupos etários.

TABELA I

Anticorpos para o vírus EB em crianças de ambos os sexos

Idade (anos)	N.º de soros examinados	Soros positivos para o vírus EB	
		N.º	%
0  — 3	70	18	25,7
3  — 6	54	30	55,5
6  — 9	13	9	69,2
Total	137	57	41,6

TABELA II

Anticorpos para o vírus EB em indivíduos adultos do sexo feminino

Idade (anos)	N.º de soros examinados	Soros positivos para o vírus EB	
		N.º	%
15  — 20	42	35	83,3
20  — 25	53	47	88,6
25  — 30	62	52	83,8
30  — 35	45	44	97,7
35  — 40	54	46	85,2
Total	256	224	87,5

Na Tabela III apresentamos as taxas de positividade no grupo de crianças examinadas, segundo o sexo e a idade.

No momento em que foi feita a primeira colheita de sangue, no grupo de 137 crianças examinadas, 36 apresentavam-se com sintomas clínicos classificados como de rino-faringite, tráqueo-bronquite e quadro febril, com faringite e um hemograma típico de infecção viral; nas restantes 101 crianças não se encontraram quaisquer sintomas de quadro clínico respiratório ou de outra localização. Na Tabela IV apresentamos a distribuição dos soros positivos e negativos para o vírus EB, de acordo com os quadros referidos.

Na Fig. 1 apresentamos os resultados das provas de imunofluorescência quantitativa para o vírus EB feitas com 57 soros de crianças.

## DISCUSSÃO

Os resultados da presente investigação mostram um nítido aumento na proporção de indivíduos com anticorpos para o vírus EB, com a idade: do grupo de 0 a 3 anos ao grupo de 6 a 9 anos as porcentagens de positividade aumentaram de 25,7% para 69,2%, com uma porcentagem média, para as idades de 0 a 9 anos de 41,6%; em adultos do sexo feminino não se observou aumento significativo com o decorrer da idade, muito embora

TABELA III

Anticorpos para o vírus EB em crianças segundo o sexo e a idade

Idade (anos)	Total de soros examinados segundo o sexo		Soros positivos para o vírus EB			
			Masculino		Feminino	
	Masculino	Feminino	N.º	%	N.º	%
0  — 3	32	38	10	31,2	8	21,1
3  — 6	33	21	20	60,6	10	66,6
6  — 9	7	6	5	71,4	4	66,6
Total	72	65	35	48,6	22	33,8

TABELA IV

Distribuição dos soros positivos e negativos para o vírus EB em crianças normais e com infecção clínica

Quadro	N.º de soros positivos para o vírus EB	N.º de soros negativos para o vírus EB	Total
Rino-faringite (I)	10	17	27
Tráqueo-bronquite (II)	3	1	4
Febre e faringite (III)	4	1	5
Sem quadro clínico (IV)	40	61	101
Total	57	80	137

tenhamos encontrado, para as idades de 15 a 40 anos uma porcentagem média de positividade de 87,5%. Notam-se variações entre estes resultados e os de outros Autores, mas, de um modo geral, há uma certa correspondência entre todos eles. CARVALHO<sup>1</sup>, em 81 crianças da cidade de São Paulo (Brasil), normais com idades compreendidas entre 0 a 9 anos encontrou porcentagem de positividade de 69,1%, utilizando a linhagem Jiyoye e uma diluição de sôro de 1:10; com a linhagem EB aquela porcentagem foi de 59,0%. PEREIRA & col.<sup>20</sup> encontraram, com diluições de sôro a 1:5, em crianças normais, de idade inferior a 4 anos, uma porcentagem de 57,0% e em adultos entre 18 a 49 anos, porcentagens que variavam de 59,0% a 73,0%. NIEDERMAN & col.<sup>19</sup>, dependendo da idade e da área geográfica, encontraram, com dilu-

ções de sôro a 1:5 e 1:10, porcentagens de positividade variando entre 26,0 e 87,0%. DEMISSIE & SVEDMYR<sup>2</sup>, num grupo de indivíduos do sexo feminino observaram, para diluições do sôro a 1:8, uma variação das porcentagens de positividade de 90,0% ao nascer, para 12,0% aos 2 anos de idade e 90,0% aos 20 anos. As variações referidas podem refletir, entre outros fatores, a interferência de condições do ambiente (HENLE & col.<sup>12</sup>; PORTER & col.<sup>21</sup>). Não se observaram diferenças significativas entre as porcentagens de positividade em crianças do sexo masculino e do sexo feminino, nos grupos etários considerados.

Não obstante todos os Autores terem verificado uma constante associação entre quadros de mononucleose infecciosa e títulos elevados de anticorpos para o vírus EB, continua

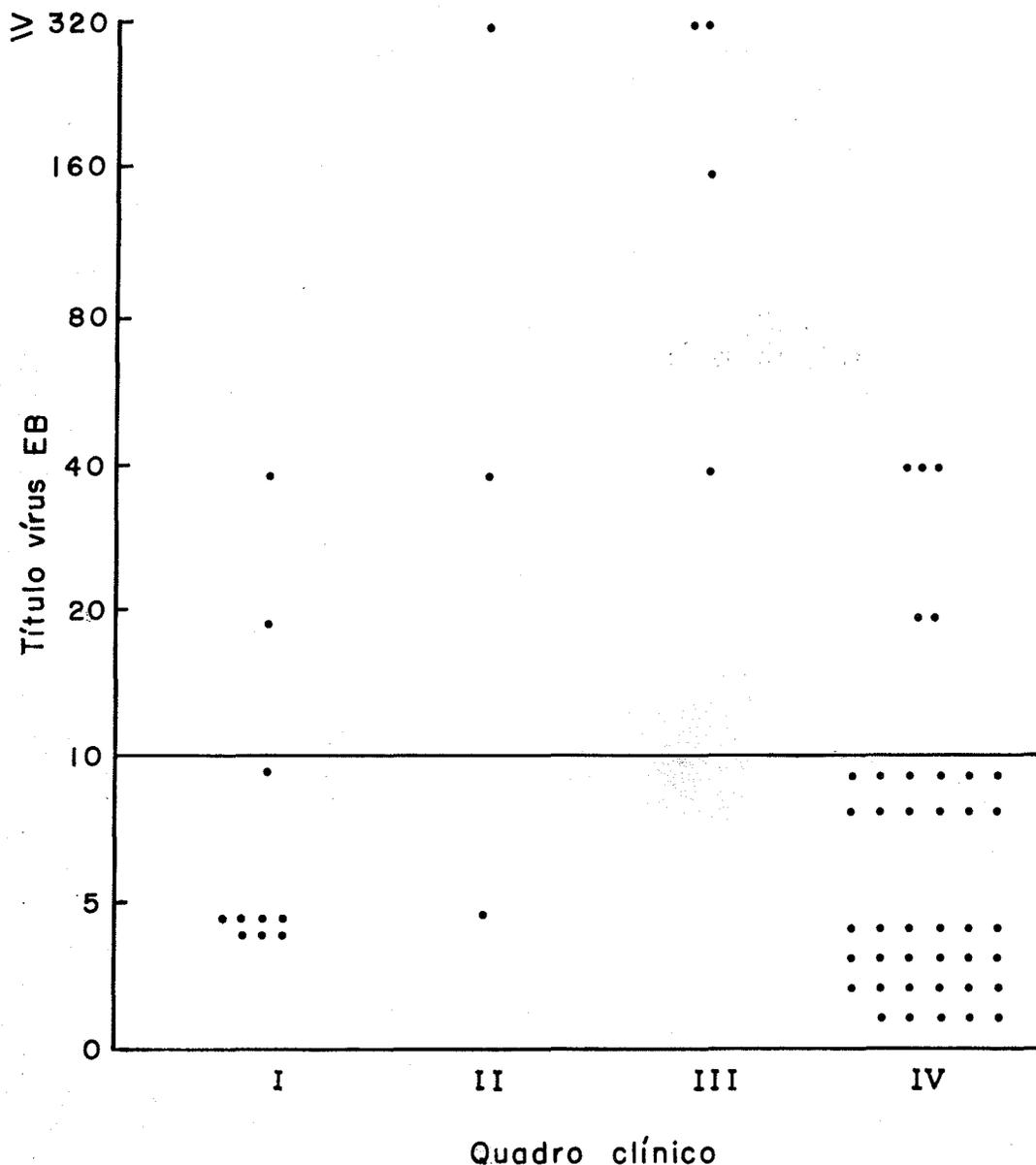


Fig. 1 — Resultado da prova quantitativa de pesquisa de anticorpos para o vírus EB em 57 crianças (ver Tabela IV)

não esclarecido o ponto fundamental de saber-se se a mononucleose corresponde ao primeiro encontro com aquele vírus, ou se é outro o agente etiológico daquela infecção, o qual reativaria uma infecção latente pelo vírus EB, adquirida precocemente (GLADE & col.<sup>8</sup>,<sup>9</sup>; NIEDERMAN & col.<sup>19</sup>).

A distribuição dos soros positivos e negativos para o vírus EB em crianças normais e com infecção clínica (Fig. 1) mostra que em 57 crianças com soros positivos, 77,1% tinham título  $\leq 10$ , 17,7% títulos maiores do que 10 e menores do que 320 e somente 5,2%, título  $\geq 320$ ; das três crianças com título  $\geq$

320 uma apresentava, no momento da primeira colheita de sangue, sintomas classificados como de tráqueo-bronquite e as duas restantes, febre, faringite e um hemograma de infecção viral e tôdas elas com um título de Paul-Bunnell de 40. Uma outra criança com um título de 160 para o vírus EB e um quadro febril de faringite, tinha um título de Paul-Bunnell < 10. Duas crianças com sintomas de tráqueo-bronquite tinham títulos para o vírus EB de 40 e 5, com Paul-Bunnell de título < 10; uma criança com Paul-Bunnell < 10 e título EB de 40 apresentava febre, faringite e hemograma de infecção viral. MOTT<sup>17</sup>, encontrou em sete pacientes Paul-Bunnell negativos, anticorpos para o vírus EB, o que parece indicar-lhe, como a NIEDERMAN & col.<sup>18</sup> um prévio contato com o vírus ou um quadro de mononucleose infecciosa sem formação ou com formação tardia de anticorpos heterófilos. KLEIN & col.<sup>14</sup> e KLEIN<sup>15</sup> referem-se à ausência de relação entre os níveis de anticorpos para o vírus EB e os anticorpos heterófilos: na mononucleose infecciosa os títulos de anticorpos para o vírus EB atingem valores máximos nas primeiras quatro semanas da doença, decrescem lentamente, podendo encontrar-se, após vários anos, títulos mais baixos, quando os anticorpos heterófilos há muito desapareceram.

Nossos resultados podem sugerir que o primeiro contato com o vírus EB poderia apresentar-se sob a forma de uma infecção respiratória aguda. A pesquisa de seroconversão em crianças normais, plano de pesquisa que mantemos em curso, poderá esclarecer de modo mais concludente este ponto básico.

#### SUMMARY

*A survey for EB virus antibody in adults and children of different ages*

The prevalence of antibody to EB virus, determined by indirect immunofluorescence technique, on the sera of children of both sexes and women, from the city of São Paulo, Brazil, varied according to the age. Up to the age of 9 years the prevalence rate was 41.6 per cent and there was a significant increase in the proportion of those positive between the ages of 15 and 40 years, the antibody prevalence being 87.5 per cent.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Luiz Augusto Monteiro de Toledo, ao Dr. Edmundo Navajas, à D. Erna M. Bastian e à D. Zarife Harmuch do Centro de Saúde "Geraldo de Paula Souza", da Faculdade de Saúde Pública, a valiosa colaboração dispensada. Às Srtas. Maria Aparecida Rezende de Araújo e Maria Cloniza da Costa Vieira agradecemos o auxílio técnico prestado.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARVALHO, R. P. de S. — Comunicação pessoal.
2. DEMISSIE, A. & SVEDMYR, A. — Age distribution of antibodies to EB virus in Swedish females as studied by indirect immunofluorescence on Burkitt cells. *Acta Path. Microbiol. Scandinav.* 75:457-465, 1969.
3. EPSTEIN, M. A.; ACHONG, B. G. & BARR, Y. M. — Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1: 702-703, 1964.
4. EPSTEIN, M. A. & BARR, Y. M. — Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt's malignant lymphoma. *Lancet* 1: 252-253, 1964.
5. EVANS, A. S. — Infectious mononucleosis in University of Wisconsin students. *Amer. J. Hyg.* 71:342-362, 1960.
6. EVANS, A. S.; NIEDERMAN, J. C. & McCOLLUM, R. W. — Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *New England J. Med.* 279:1121-1127, 1968.
7. GERBER, O.; HAMBRE, D.; MOY, R. A. & ROSENBLUM, E. N. — Infectious mononucleosis: complement-fixing antibodies to herpes-like virus associated with Burkitt lymphoma. *Science* 181:173-175, 1968.
8. GLADE, P. R.; HIRSHANT, Y.; DOUGLAS, S. D. & HIRSHOR, K. — Lymphoid suspension cultures from patients with viral hepatitis. *Lancet* 2:1273-1275, 1968.
9. GLADE, P. R.; HIRSHORN, K. & DOUGLAS, S. D. — Herpes-like virus. *Lancet* 1:1049, 1050, 1969.
10. HENLE, G. & HENLE, W. — Immunofluorescence, interference and complement fixation techniques in the detection of the herpes-type virus in Burkitt tumor cell lines. *Cancer Res.* 27:2442-2446, 1967.

11. HENLE, W. & HENLE, G. — Effect of arginine — deficient media on the herpes-type virus associated with cultured Burkitt tumor cells. *J. Virol.* 2:182-191, 1968.
12. HENLE, G.; HENLE, W. & DIEHL, V. — Relation of Burkitt's tumor associated herpes — type virus to infectious mononucleosis. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 59:94-101, 1968.
13. HINUMA, Y.; CONN, M.; YAGAMUCHI, J. & GRACE, J. T. — Replication of herpes-type virus in a Burkitt lymphoma cell line. *J. Virol.* 1:1203-1206, 1967.
14. KLEIN, G.; PEARSON, G.; HENLE, G.; HENLE, W.; DIEHL, U. & NIEDERMAN, J. C. — Relation between EPSTEIN-BARR viral and cell membrane immunofluorescence in Burkitt tumor cells. II — Comparison of cells and sera from patients with Burkitt's lymphoma and infectious mononucleosis. *J. Exp. Med.* 128:1021-1030, 1968.
15. KLEIN, G. — Some immunological studies on Burkitt's lymphoma. (In press).
16. LEVY, J. A. & HENLE, G. — Indirect immunofluorescence tests with sera from African children and cultured Burkitt lymphoma cells. *J. Bact.* 92:275-276, 1966.
17. MOTT, M. G. — Serological studies in infectious mononucleosis. *Brit. Med. J.* 4:171, 1969.
18. NIEDERMAN, J. C.; McCOLLUM, R. W.; HENLE, G. & HENLE, W. — Infectious mononucleosis: clinical manifestations in relation to EB virus antibodies. *J.A.M.A.* 203:205-209, 1968.
19. NIEDERMAN, J. C.; EVANS, A. S.; SUBRAHMANYAN, L. & McCOLLUM, R. W. — Prevalence, incidence and persistence of EB virus antibody in young adults. (In press).
20. PEREIRA, M. S.; BLAKE, J. M. & MACRAE, A. D. — EB virus antibody at different ages. *Brit. Med. J.* 4:526-527, 1969.
21. PORTER, D.; WIMBERLY, I. & BENYESH-MELNICK, M. — Prevalence of antibodies to EB virus and other herpes viruses. *J.A.M.A.* 208:1675-1679, 1969.
22. SVEDMYR, A. & DEMISSIE, A. — Age distribution of antibodies to Burkitt cells. *Acta Path. Microbiol. Scandinav.* 73:653-654, 1968.

Recebido para publicação em 9/4/1970.