

## PRESENÇA DO ANTÍGENO "AUSTRÁLIA" (Au) EM POPULAÇÕES DO INTERIOR DO ESTADO DO AMAZONAS — BRASIL

Gilberta BENSABATH <sup>(1)</sup> e Jorge BOSHELL <sup>(2)</sup>

### RESUMO

A pesquisa do antígeno Au no soro de pessoas residentes ao longo do rio Purus, Estado do Amazonas, mostrou-se positiva em 17,9% dos indivíduos com hepatite ou história de hepatite, e em 5,1% dos indivíduos sem história de hepatite. Foram testados ao todo 506 indivíduos, com um percentual de positividade, nos dois grupos, igual a 9%.

### INTRODUÇÃO

Não obstante as controvérsias sobre o significado do antígeno Au, sua descoberta, sem dúvida, veio adicionar uma nova dimensão ao estudo da hepatite a vírus.

O antígeno Au foi encontrado por ALLISON & col.<sup>1</sup> e BLUMBERG & col.<sup>2,3</sup>, em 1965, no decurso de pesquisas sobre antígenos introduzidos com o sangue, em indivíduos com história de múltiplas transfusões. Posteriormente, em 1967, foi reconhecida sua associação com a hepatite a vírus<sup>4,5</sup>, e desde então avolumaram-se dados que dão apoio à hipótese de que o antígeno Au, se não é um vírus, é um antígeno ligado a um vírus capaz de produzir hepatite no homem. Como é provável que existam pelo menos dois vírus diferentes causadores de hepatite<sup>6</sup>, tem-se especulado a qual dos dois tipos estaria vinculado o antígeno Au. Os estudos de GILES & col.<sup>7</sup> mostraram uma quase unânime associação do antígeno com as amostras do soro por eles chamado MS2, causador de hepatite de soro homólogo. SUTNICK<sup>10</sup>, no entanto, cita que de 83 pacientes de hepatite com antígeno Au no soro, somente 60% tinham história de transfusão ou injeção precedente. Do mesmo modo, WRIGHT<sup>11</sup>, em 46 pacientes de hepatite aguda a vírus, com antígeno Au no soro, encontrou apenas 21 do tipo

soro homólogo. Por outro lado, tem sido o antígeno encontrado também em indivíduos sãos que nunca tiveram hepatite ou receberam transfusão de sangue<sup>10</sup>.

Durante as pesquisas feitas pelo Instituto Evandro Chagas ao longo do rio Purus e seus afluentes, no Estado do Amazonas, sobre a chamada Febre Negra de Lábrea, tivemos a oportunidade de testar soros de habitantes de várias localidades para o antígeno Au, e os resultados obtidos constituem o assunto deste trabalho. A Febre Negra de Lábrea é uma hepatite grave, de desenlace quase sempre fatal, por muitos considerada como uma forma fulminante de hepatite a vírus. Sua verdadeira natureza é, no entanto, ainda muito discutida.

### MATERIAL E MÉTODOS

As primeiras amostras testadas pertenciam a pacientes de um surto de Febre Negra de Lábrea, ocorrido em Santa Cruz do Pacia, em 1965. Neste surto, entre agosto e novembro de 1965, houve 15 casos com 7 óbitos. Dos 15 pacientes, seis puderam ser removidos para Belém, em avião da Força Aérea Brasileira, e internados em um hospital. Os soros das fases aguda e de convalescença fo-

Instituto Evandro Chagas, Seção de Epidemiologia. Fundação Instituto Oswaldo Cruz.

(1) Pesquisador do Instituto Evandro Chagas

(2) Ex-pesquisador do Instituto Evandro Chagas. Endereço atual: Calle 86, 1137, Bogotá - Colômbia

ram enviados para a Escola de Medicina da Universidade de Yale, New Haven, assim como o soro de 4 contatos. Em todas as amostras da fase aguda constatou-se a presença do antígeno Au, o qual desapareceu na fase de convalescença, com exceção de um dos pacientes<sup>6</sup>.

Após esses achados iniciais, muito sugestivos, seguiu-se uma fase de estudo sistemático da chamada Febre Negra de Lábrea. Esta fase teve como objetivo um reconhecimento das populações do rio Purus e alguns de seus afluentes para colheita de dados epidemiológicos, soros e amostras de produtos alimentícios consumidos na região. A última parte foi incluída em virtude da suspeita de um agente tóxico estar envolvido na etiologia da Febre Negra de Lábrea. Todo o trabalho de campo foi efetuado por um de nós (J.B.), no período de novembro de 1969 a junho de 1970. Os dados não relacionados com o antígeno Au serão publicados alhures.

Nesta segunda fase não se encontraram casos da Febre de Lábrea; apenas indivíduos com icterícia ou história de icterícia, provavelmente devida à hepatite a vírus. Os casos já sem sintomas foram registrados pelas informações do próprio paciente ou de circunstâncias. Muitos familiares e contatos outros foram também incluídos no inquérito, para verificar-se o achado do antígeno em pessoas assintomáticas, porém vivendo nos locais onde, com mais freqüência, havia a Febre de Lábrea sido assinalada.

De cada pessoa, entrevistada de passagem, foi possível tomar-se apenas uma única amostra de sangue. O soro era separado logo que possível e guardado em refrigerador comum, a bordo de uma lancha.

Devido à baixa densidade demográfica (em um trecho de 850 quilômetros, excluindo-se as poucas cidades, residiam apenas 6.227 pessoas) e à ausência de hospitais, postos de saúde, médicos e estradas de acesso, somente por acaso ou pela situação altamente endêmica da hepatite a vírus, puderam ser obtidas amostras de sangue na fase aguda da doença. Ao todo recolheram-se 511 amostras, das quais 506 foram aproveitadas. Uma parte dos soros foi testada em New Haven por um dos Autores (G.B.) e o resto em Belém, no Instituto Evandro Chagas.

Para todas as 506 amostras empregamos o método de imunodifusão (ID) em ágar-gel

(Outchterlony), com Agarose a 0,6% numa solução tamponada de Tris. Como soro anti-Au foi usado o soro, três vezes concentrado, de uma enfermeira de uma unidade de hemodiálise, que nunca apresentara sintomas. Este soro deu reação de identidade com o antissor de referência, quando testado com um soro possuidor do antígeno.

Em 152 amostras fez-se também um teste de fixação do complemento (FC) em micro-

TABELA I  
Comparação dos resultados obtidos com os métodos de fixação do complemento e imunodifusão

		FC Antígeno		
		negativo	positivo	
ID	Negativo	137	2	139
	Positivo	0	13	13
		137	15	152
		FC Anticorpo		
		negativo	positivo	
ID	Negativo	135	0	135
	Positivo	17	0	17
		152	0	152

TABELA II  
Comparação dos resultados obtidos com os métodos de imunodifusão e imunoelctromoforese

		IEOP Antígeno		
		negativo	positivo	
ID	Negativo	395	3	398
	Positivo	2	42	44
		397	45	442
		IEOP Anticorpo		
		negativo	positivo	
ID	Negativo	399	1	400
	Positivo	35	7	42
		434	8	442

TABELA III

Soros da região do Purus e o Antígeno associado a hepatite (A A H) resultados das provas de imunodifusão

	Soros de casos de hepatite colhidos após início dos sintomas						Total de soros de casos de hepatite		Soros de pessoas que não tiveram hepatite	
	Menos de um mês		1-12 meses		12 meses					
	Ag	Ab	Ag	Ab	Ag	Ab	Ag	Ab	Ag	Ab
Tapaua	1 (1) (*)	0 (1)	2 (6)	1 (6)	0 (7)	1 (7)	3(14)	2(14)	7 (92)	12 (92)
Lábrea:										
Zona urbana	0 (1)	0 (1)	5(20)	2(20)	2(24)	3(24)	9(45)	5(45)	7(163)	9(163)
Zona rural	0 (5)	2 (5)	3(21)	1(21)	3(11)	0(11)	6(37)	3(37)	0 (15)	1 (15)
Rio Branco	0 (2)	0 (2)	1 (6)	0 (6)	1 (2)	0 (2)	2(10)	0(10)	—	—
Boca do Acre	3 (5)	1 (5)	0 (2)	0 (2)	0 (3)	0 (3)	3(10)	1(10)	1 (7)	0 (7)
Sena Madureira	1 (2)	0 (2)	0 (3)	1 (3)	—	—	1 (5)	1 (5)	1 (3)	0 (3)
Pauini	0 (2)	0 (2)	2(18)	0(18)	1 (7)	0 (7)	3(27)	0(27)	2 (27)	1 (27)
Canutama	—	—	—	—	0 (7)	1 (7)	0 (7)	1 (7)	0 (12)	1 (12)
Em trânsito	1 (1)	0 (1)	—	—	—	—	1 (1)	0 (1)	—	—
Manacapuru	—	—	—	—	—	—	—	—	0 (31)	3 (31)
Total	6(19)	3(19)	13(76)	5(76)	9(61)	5(61)	28(156)	13(156)	18(350)	27(350)
Porcentagem	31.6	15.8	17.1	6.6	14.8	8.2	17.9	8.3	5.1	7.7

(\*) Números entre parêntesis correspondem ao número de soros testados

placas. Como soro contendo antígeno utilizou-se o mesmo referido no método anterior, porém como soro contendo anticorpos anti-Au foi usado soro de referência preparado em cobaio e fornecido pelos Institutos Nacionais de Saúde dos EE.UU. As amostras eram submetidas inicialmente a uma seleção, em diluições 1:2, 1:8 e 1:64, contra uma única diluição do antígeno ou anti-soro contendo 2 ou 4 unidades. Em seguida, as amostras positivas eram diluídas ao duplo, sucessivamente, até 1:256, contra três diluições do antígeno (titulação em bloco).

Por imunoelctrosmoforese (IEOP) foram testadas 442 amostras, através da técnica idealizada por PRINCE<sup>9</sup>. Com este método podem-se obter resultados mais rápidos, daí a razão de seu emprego na seleção de doadores de sangue.

#### RESULTADOS

No grupo com história de hepatite, num total de 156 indivíduos, encontrou-se uma positividade para o antígeno Au igual a 17,9% (Tabela III). O percentual foi maior no primeiro mês da doença (31,6%), muito embora o número de indivíduos encontrados nesta fase não tenha sido expressivo. Vários Autores já assinalaram o aparecimento precoce do antígeno Au, na primeira fase da doença e mesmo no período de incubação, coincidindo o fato mais com a presença de um antígeno viral do que com um produto resultante de lesão celular.

No grupo sem história de hepatite, com 350 indivíduos, a prevalência foi também alta (5,1%), revelando uma situação de endemicidade elevada. Para efeito de comparação, diremos que a positividade entre escolares de Belém, com idade de 8 a 12 anos, considerados sãos, é de aproximadamente 1%. Esses números coincidem com os dados de outros Autores, os quais mostram que o antígeno Au se torna mais freqüente em pessoas sem sintomas de hepatite, à medida que as condições sanitárias decrescem.

#### COMENTÁRIOS

Os resultados acima apresentados foram aqueles obtidos pelo método de imunodifusão. No que se refere à sensibilidade e espe-

cificidade dos três métodos empregados, vê-se nas Tabelas I e II que os resultados de ID, FC e IEOP não foram muito diferentes para a pesquisa do antígeno, havendo maior discrepância com relação ao anticorpo. Com a IEOP as lâminas deixadas para serem lidas, mais uma vez, no dia seguinte, mostraram novas linhas de precipitação, consideradas como não específicas. Por estes resultados e pelo fato de que a quase totalidade dos soros foi testada por ID, resolvemos preferir os dados obtidos por este método.

A idéia de ser a Febre de Lábrea uma forma fulminante de hepatite a vírus, foi o que nos levou a pesquisar o antígeno Au no soro dos pacientes da epidemia de Santa Cruz do Pacia. Além de ter sido ele encontrado em todos os doentes vistos em fase aguda, foi também positivo no soro de um dos contatos, o qual adoeceu 12 dias após a colheita do sangue, vindo a falecer<sup>6</sup>. As lesões hepáticas verificadas neste caso, à autópsia, eram em tudo semelhantes às lesões vistas em outros casos fatais da doença. Testes feitos com amostras de soro colhidas seis anos após a epidemia, por um de nós (G.B.), de quatro sobreviventes que nos foi possível reexaminar, mostraram que dois eram ainda positivos para o antígeno Au.

Ao contrário da Febre de Lábrea, que é uma doença que surge esporadicamente ao longo dos rios Purus e Juruá, sob a forma de micro-epidemias, a hepatite a vírus é uma doença endêmica em toda a região amazônica, e isso explicaria talvez a alta prevalência do antígeno Au na população em geral. Caso fosse a Febre de Lábrea, entretanto, apenas uma forma fulminante da hepatite a vírus, dever-se-ia esperar que micro-epidemias ocorressem em outros locais da Amazônia, além do Purus e do Juruá, do que não se tem notícia. Não deixa de ser interessante, no entanto, a relação assinalada do antígeno Au com a Febre de Lábrea, apesar do número de observações ser ainda bastante reduzido. Outros estudos se fazem necessários antes de chegar-se a uma conclusão. De qualquer modo, confirmada sua presença nos doentes de Febre de Lábrea, a despeito da alta prevalência do mesmo nas populações do rio Purus, o achado seria mais um argumento a favor da etiologia viral da doença.

SUMMARY

*Occurrence of "Australian" (Au) antigen in population groups of the interior of the State of Amazonas, Brazil.*

The sera of 506 subjects living along the Purus River and some of its tributaries, Amazonas State, Brazil, were tested for the Australian antigen, in a group with jaundice or history of jaundice, the Au-antigen was found in 17.9% of the individuals. People of another group, without history of jaundice, showed a positivity of 5.1%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLISON, A. C. & BLUMBERG, B. S. — An Isoprecipitation Reaction distinguishing Human Serum Protein types. *Lancet* 1:634-637, 1961.
2. BLUMBERG, B. S.; ALTER, H. J. & VISNICH, S. — A "new antigen in leukemia sera. *JAMA* 191:541-546, 1965.
3. BLUMBERG, B. S. & ALTER, H. J. — Precipitating antibodies against a serum-protein ("Australia antigen") in the serum of transfused hemophilic patients. *J. Clin. Invest.* 44:1029, 1965.
4. BLUMBERG, B. S.; GERSTLEY, B. J.; HUNGERFORD, D. A.; LONDON, W. T. & SUTNICK, A. I. — A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann. Inter. Med.* 66:924-931, 1967.
5. BLUMBERG, B. S.; SUTNICK, A. I. & LONDON, W. T. — Hepatitis and leukemia; their relation to Australia antigen. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 44:1566-1586, 1968.
6. BOSHELL, J. — *Relatório interno do Instituto Evandro Chagas*. Belém, Pará, 1970.
7. GILES, J. P.; MC COLLUM, R. W.; BERNDTSON, L. W. JR. & KRUGMAN, S. — Viral Hepatitis, Relation of Australia SH antigen to the Willowbrook MS-2 strain. *New Engl. J. Med.* 281:119-122, 1969.
8. KRUGMAN, S.; GILES, J. P. & HAMMOND, J. — Infectious hepatitis evidence for two distinctive clinical, epidemiological and immunological types of infection. *JAMA* 200:95-103, 1967.
9. PRINCE, A. M. & BURKE, K. — Serum hepatitis Antigen (SH). Rapid detection by high voltage immunoelectrophoresis. *Science* 169:593-595, 1970.
10. SUTNICK, A. I.; LONDON, W. P.; MILIMAN, I.; COYNE, E. C. & BLUMBERG, B. S. — Viral hepatitis. Revised concepts as a result of the study of Australia antigen. *Med. Clin. North America* 54:805-816, 1970.
11. WRIGHT, R.; MC COLLUM, R. W. & KLATSKIN, G. — Australia Antigen in acute and chronic liver disease. *Lancet* 2:117-121, 1969.

Recebido para publicação em 12/12/1972.