

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE ALGUMAS DOENÇAS INFECCIOSAS

CRISTINA VALENTE, M. JOÃO FARIA, LUÍS TRINDADE, M.S. JOSÉ BARROS, A.A. VIEIRA, ISABEL ALBUQUERQUE, ROSÁLIA RODRIGUES

Serviços de Infeciologia, Patologia Clínica, Hematologia. Centro Hospitalar de Coimbra. Coimbra

RESUMO

Os testes serológicos são em grande parte dos casos, o único meio possível para o diagnóstico de algumas doenças infecciosas. Os autores fazem uma revisão bibliográfica sobre os testes serológicos mais usados nas mais comuns doenças infecciosas, conjuntamente com a sua interpretação. Chama-se a atenção para o facto da serologia não dever ser apreciada isoladamente mas sim enquadrada num contexto clínico. Realça-se a importância, na maioria dos casos, de duas colheitas de sangue com duas a três semanas de intervalo, para testemunhar se há ou não subida do título de anticorpos detectáveis, ou seroconversão. Todos os valores dados por um laboratório devem ser interpretados baseados em valores referência.

SUMMARY

Serological Diagnosis of some infectious diseases

Serological tests are, in some situations, the only method of diagnosis of some infectious diseases. The authors make a review of the literature about the most important tests used in the most common infectious diseases and also their interpretation. It is important to point out that serology should not be considered alone but compared to clinical manifestations presented by the patient. It is also necessary, in some cases, to obtain two samples of serum, to confirm if there is an increase in the antibodies' titres. The results sent from the laboratory should be interpreted based on references given by it.

INTRODUÇÃO

Os testes serológicos ou seja, aqueles que detectam as reacções antigénio(Ag)-anticorpo(Ac), são por vezes o único meio de diagnóstico de algumas doenças infecciosas, quando não dispomos de outros exames complementares, nomeadamente microbiológicos.

Princípios gerais do serodiagnóstico — Para o serodiagnóstico dispomos de métodos qualitativos e métodos quantitativos, que nos traduzem o contacto, ou não, com o antigénio em causa. A produção de anticorpos segue-se a uma estimulação antigénica, sendo a sua taxa variável, dependendo da sua síntese, velocidade de degradação e fase da doença¹.

O organismo humano, quando em contacto com um antigénio, responde, fracamente, com a produção de Acs(resposta primária) e mais fortemente em contactos posteriores (resposta secundária). Inicialmente, desenvolvem-se anticorpos predominantemente da classe IgM; após uma segunda estimulação antigénica é a classe IgG a pre-

dominante, apresentando estas últimas uma maior especificidade que as imunoglobulinas da classe IgM¹.

A produção de Acs após estimulação antigénica, pode continuar durante meses e mesmo anos após a infecção. A presença de um título elevado de Acs indica somente que houve infecção recente ou longínqua; para estabelecer que a doença é actual torna-se necessário observar uma subida significativa de Acs ou uma seroconversão, enquanto que só por si uma pesquisa de Acs da classe IgM, pressupõe o diagnóstico de infecção recente².

Anticorpos — São as imunoglobulinas, habitualmente das classes IgM e IgG que surgem na resposta imunitária. As primeiras representam 6 a 10% do total de imunoglobulinas, sendo os primeiros anticorpos a surgir na resposta imunitária primária, enquanto que as IgG representam cerca de 75% das imunoglobulinas^{1,3} e como atravessam a placenta, contrariamente às IgM, conferem ao recém-nascido uma imunidade passiva^{1,2}. A maior parte dos anticorpos antibacterianos e antivirais são da classe IgG.

Os anticorpos surgem em circulação num período variável de pouco mais de um dia até algumas semanas, apresentando uma fase de crescimento, uma fase de planalto e entrando depois numa fase de decréscimo; alguns destes desaparecem completamente da circulação, mantendo-se outros durante vários anos¹.

BRUCELOSE

Para a detecção dos anticorpos brucélicos, existem dois tipos principais de testes:

Testes de Aglutinação rápida:

Reacção de Rosa Bengala (R.R.B.) — neste teste utiliza-se um antigénio tamponado, corado pelo Rosa Bengala, que detecta, precocemente, aglutininas específicas de *Brucella*, embora um pouco mais tardiamente que a reacção de Wright (R.W.), sendo habitualmente negativa até ao final da primeira semana e em alguns casos até na segunda semana, permanecendo no entanto positiva durante longo tempo. Apesar da sua actualidade em inquéritos epidemiológicos⁴, a sua positividade retira-lhe valor como prova de cura ou de vigilância dos doentes⁵. Este teste é muito utilizado para rastreio, devido à sua sensibilidade e especificidade.

Reacção de Huddleson - esta reacção consta de uma aglutinação em placa e detecta quer imunoglobulinas da classe IgM, quer da classe IgG.

Testes de aglutinação lenta:

Reacção de Wright (R.W.) - trata-se de uma seroaglutinação feita em tubos, com diluições progressivas de 1/20, 1/40... 1/2560. É uma reacção que detecta IgM (fase aguda da doença), surgindo estas por volta do 10º dia da doença⁶, tendo um pico máximo entre as 3-4 semanas, atenuando-se depois por volta dos 6-7 meses, razão porque pode ser negativa, nos casos de brucelose crónica.

Considera-se positiva com um valor $\geq 1/80$ ⁷. Um título de 1/40, significa a presença de anticorpos brucélicos, tratando-se de uma infecção no passado, indivíduos vacinados ou residentes em áreas endémicas. Salienta-se, por isso, a importância de colheitas de sangue com pelo menos duas semanas de intervalo, para apreciar uma eventual subida de títulos.

A fase prévia à detecção de anticorpos, no decurso de uma infecção aguda, pode dar origem a um falso negativo, bem como os fenómenos de zona e a presença de anticorpos bloqueantes⁴, pelo que se deve insistir em novas colheitas, enviando-as com a informação da patologia de que se suspeita. Situações tais como cólera, tularémia, infecções por *Yersinia enterocolitica*, linfomas, L.E.D., septicémias, tuberculose miliar, podem dar falsos positivos de R. Wright.

Prova do 2 mercapto-etanol — Esta prova é menos vulgarizada mas tem a sua importância porque detecta IgG e esclarece quando há resultados duvidosos na serologia clássica, devido ao facto de identificar a presença de anticorpos bloqueantes.

Reacção de fixação do complemento (F.C.) — É uma reacção que identifica imunoglobulinas específicas, sendo positiva com um título $\geq 1/16$, atingindo um valor máximo aos 6 meses, positivando-se depois da R.W., mas mantendo-se durante muito mais tempo⁶.

Imunofluorescência indirecta (IFA) — É uma prova que detecta imunoglobulinas da classe IgA, IgM e IgG, positivando mais tardiamente que a R.W. e atingindo o seu máximo aos três meses^{5,7}; ultrapassa as reacções cruzadas e é considerada positiva com um título $\geq 1/40$; de salientar que valores bastante inferiores são suficientes para se considerarem positivos se os anticorpos forem detectados no L.C.R. .

Outros testes - Inclui-se aqui a prova de Coombs, que é considerada positiva com um título $\geq 1/40$ e útil quando R.W. e a IFI são duvidosas.

FEBRE TIFÓIDE

Para detecção de anticorpos no decurso da febre tifóide utilizam-se antigénios O-H-Vi da *Salmonella typhi*, que permitem pôr em evidência no soro as aglutininas O (mais precoces) que surgem pelo 8º dia e as aglutininas H pelo 10º - 12º dia⁸. No período de estado da doença aumentam tanto as aglutininas O como as H, declinando as primeiras mais rapidamente que as últimas⁹.

Reacção de Widal-Félix — Trata-se de uma aglutinação em tubos, que é considerada positiva com um título $\geq 1/160$.

O Ag O (somático) considera-se com um título significativo $\geq 1/160$ e o AgH (flagelar) é considerado indicativo de infecção em títulos mais elevados, cerca de cinco vezes, relativamente ao AgO. O AgH mantém-se positivo, mesmo após a cura da febre tifóide em casos de infecções passadas, nos vacinados e a partir dos três meses de doença⁹.

O Ag Vi tem apenas interesse para a detecção dos portadores. São úteis duas colheitas com cerca de sete a dez dias de intervalo.

Constituem excepções a ausência de AgO que por vezes ocorre nas crianças e o aparecimento das aglutininas O com terapêutica corticóide. Podem ocorrer falsos positivos em outras doenças tais como na brucelose, infecções por enterobacteriácias e mesmo em algumas doenças inflamatórias¹⁰.

SÍFILIS

Para a detecção serológica da sífilis há vários testes que identificam anticorpos, sendo os seguintes os mais vulgarizados:

Testes não treponémicos:

a) **VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)** — Trata-se de uma prova de microaglutinação não treponémica, sendo um teste qualitativo, que utiliza como antigénio uma solução de cardiolipina, lecitina e colesterol^{11,12}; só se torna positiva cerca de seis semanas após a infecção e 2 a 3 semanas após o acidente primário.

Testes treponémicos:

b) FTA-Abs (Teste de imunofluorescência indirecta) — Trata-se de um teste treponémico, específico e sensível em todas as fases da sífilis^{13,14,15}, que permanece positivo indefinidamente, com ou sem terapêutica adequada, logo não deve ser usado para controlo de eficácia terapêutica¹¹.

c) T.P.H.A (Teste de Hemaglutinação passiva) — Esta prova utiliza também um Ag treponémico e tal como a anterior detecta quer IgM quer IgG¹², o que a torna útil na detecção da sífilis tardia¹⁴, e sendo útil como a anterior, para confirmar resultados dos testes não específicos para o *Treponema*^{15,16} ou mesmo quando os primeiros são negativos¹¹. Considera-se uma reacção positiva com um título de 1/80 no sangue e de 1/40 no LCR; aliás uma VDRL positiva no LCR é, também, só por si, indicadora de neurosífilis¹⁶.

De salientar que no decurso de uma infecção concomitante com o Virus de Imunodeficiência Humana (V.I.H), estes testes podem ser negativos.

Os testes não treponémicos podem ser positivos em várias outras doenças, distintas da sífilis, por exemplo, em algumas doenças víricas agudas, como sarampo, hepatite e mononucleose infecciosa¹¹, e algumas doenças bacterianas tais como a lepra, a tuberculose, leptospirose e também na malária e nas infecções por *Mycoplasma pneumoniae*¹⁷ e por *Chlamydia*¹³.

Doentes com lupus eritematoso sistémico em actividade, podem ser falsos positivos na reacção de FTA-Abs.¹¹

LEPTOSPIROSE

O diagnóstico laboratorial é fundamentado, geralmente, com recurso a testes serológicos. A reacção de aglutinação macroscópica que usa antigénios mortos é útil para rastreio e pode ser substituída por uma reacção de hemaglutinação indirecta¹⁸.

A reacção clássica de referência para a leptospirose é a reacção de aglutinação macroscópica que determina o serogrupo envolvido; consiste em pôr em contacto diversos serotipos de leptospiras vivas, com diluições progressivas de soro do indivíduo suspeito. A positividade de reacção é dada pela imobilização/aglutinação e eventual lise da estirpe em causa¹⁹.

Recentemente os métodos enzimáticos, como o ELISA, têm sido usados para detecção dos anticorpos IgM -antileptospira²⁰.

O sangue, para diagnóstico serológico, deverá ser colhido na primeira semana da doença e no final do primeiro mês para confirmação do serogrupo envolvido¹⁸. A positividade traduz-se por uma elevação superior ou igual a quatro vezes o título inicial^{18,19}. Alguns autores^{19,21,22} confirmam o diagnóstico com base em títulos de aglutinação lise $\geq 1/100$. Títulos baixos podem persistir por vários anos após a doença aguda¹⁸.

Reacções falsamente positivas podem ocorrer por contaminação dos soros ou por reacções cruzadas com outros microorganismos (por exemplo com *Mycoplasma*). Podem ocorrer falsos negativos devido a tratamentos precoces com antibióticos ou com corticóides¹⁸.

FEBRE ESCARO-NODULAR (FEN)

O diagnóstico laboratorial da FEN, provocada pela *Rickettsia conorii*, é facilmente estabelecido pelo aparecimento

de anticorpos que aumentam em título com a evolução da doença. Por este motivo é conveniente colher uma primeira amostra de sangue tão cedo quanto possível (nos primeiros dias da doença), uma segunda amostra na segunda semana de doença, e se possível uma última amostra na fase de convalescência (durante a quarta semana de doença)²³.

As reacções serológicas mais utilizadas na prática clínica são:

1. Reacção de Weil-Félix — Esta reacção baseia-se no facto das riquetsias possuírem um componente antigénico idêntico ao antigénio de superfície das estirpes OX-2, OX-19 e OX-K do *Proteus vulgaris*^{4,24-26}; por essa razão trata-se de uma reacção pouco específica^{24,27}, podendo ocorrer falsos positivos em infecções a *Proteus*, a *Borrelia* e em algumas hepatopatias²⁴.

É uma reacção tardia, sendo os anticorpos detectados só no final da segunda semana de doença^{24,27} sendo o título mínimo aceitável $\geq 1/160$. Consideram-se significativas as subidas de títulos quatro vezes o valor inicial, pois a positividade acompanhada de subida do título é mais significativa que o título em si mesmo²⁴.

2. Imunofluorescência Indirecta (IFA) — É o método de referência actual sensível e específico^{24,27,28}, permitindo detectar imunoglobulinas das classes G, M e A; no entanto esta reacção identifica essencial e precocemente IgM, tendo assim um óptimo valor diagnóstico²⁸.

As IgM surgem por volta do sétimo dia, aumentando na segunda semana²⁷ podendo persistir por três a doze meses^{4,28}, enquanto que as IgG podem persistir durante toda a vida.

**TORCH
TOXOPLASMOSE**

A toxoplasmose é uma infecção usualmente diagnosticada por métodos serológicos visto que a infecção do adulto é frequentemente assintomática²⁹. A interpretação dos resultados exige um conhecimento da dinâmica dos anticorpos: os da classe IgM surgem nos primeiros três a quatro dias após a infecção³⁰, atingindo o máximo pela terceira semana.

A síntese de IgG inicia-se uma semana após a infecção, reprime a das IgM, cujo desaparecimento habitualmente se situa entre o terceiro e o quinto mês, podendo, no entanto, persistir mais tempo até cerca de um ano ou mais³¹ (IgM residuais), o que permite concluir que não se pode suspeitar de uma infecção recente com base só num resultado "positivo" de pesquisa IgM. Os Acs IgG atingem o máximo às oito/dez semanas e permanecem estáveis durante seis a oito meses, para depois declinarem para um valor residual, que se pode manter indefinidamente³². O diagnóstico serológico baseia-se na seroconversão ou na elevação significativa da taxa de IgG, ou seja a detecção de Acs contra o *Toxoplasma gondii* pode ser utilizada na determinação do estado imunológico (infecção antiga), no diagnóstico de toxoplasmose aguda adquirida e da toxoplasmose congénita. É de salientar que nestes dois últimos casos, o diagnóstico de infecção deverá ser estabelecido com base em resultados provenientes de testes, que permitam a diferenciação de Acs IgG e IgM e a eliminação de interferências (F.R., ANA etc.)³³.

Na toxoplasmose congénita devido à quantidade de IgM produzida no feto e no recém-nascido (RN), são considerados positivos títulos baixos de Acs. No caso de suspeita de

toxoplasmose congénita, uma serologia negativa no RN é tranquilizadora; contrariamente a presença de IgG, sobretudo em títulos elevados, significa infecção *in utero* ou anticorpos transmitidos passivamente³²; neste caso deve-se tentar encontrar as IgM, que quando existem, são tradutoras de infecção congénita³⁴.

Os testes ELISA são mais sensíveis que a imunofluorescência (IF) indirecta, porque apesar desta última ser específica, dá alguns falsos positivos devido à presença de anticorpos antinucleares³⁴.

Existem testes rápidos de diagnóstico que detectam IgM e IgG, não os diferenciando.

Quando estes testes são positivos devem ser executadas técnicas quantitativas para a detecção de IgG e semiquantitativas para as IgM.

É importante que sejam sempre feitas colheitas com três semanas de intervalo^{32,35}, porque títulos baixos podem significar valores iniciais ou residuais; daí o interesse de uma segunda colheita para apreciar a evolução da taxa de anticorpos.

Na expressão dos resultados, o laboratório deverá sempre referir a técnica e os valores de referência, visto que os valores diferem dependendo da técnica utilizada e da população estudada. Apesar disto é uniformemente aceite que valores situados entre os 300/3000 UI/ml significam infecção e que valores da ordem dos 10 a 20 UI/ml podem ser valores residuais.

RUBÉOLA

Nesta doença, as imunoglobinas IgM específicas surgem logo após o início dos sintomas, habitualmente em dois a quatro dias, aumentando nas duas primeiras semanas (critério de primo-infecção) e desaparecendo, gradualmente, em aproximadamente três meses.

Durante a fase aguda da doença os anticorpos da classe IgG aumentam gradualmente, alcançando níveis máximos entre as seis e as dez semanas depois do início da sintomatologia, podendo persistir toda a vida²⁶.

O diagnóstico estabelece-se pela presença de IgM específica ou pela subida significativa do título de IgG determinado com um intervalo de duas semanas.

Perante um exantema suspeito de rubéola, devem pesquisar-se os anticorpos antirubéola: se o resultado for negativo ou inferior a 10 UI/ml ou 1/8³⁶ deverá repetir-se o estudo dez a quinze dias mais tarde³⁶. Os resultados são compatíveis com a presença de anticorpos protectores, quando superiores ou iguais a 10 UI/ml ou $\geq 1/64$ ³⁶; todos os valores inferiores ou negativos, significam que o indivíduo não tem protecção contra a rubéola e portanto é susceptível de se infectar e particularmente toda a mulher que pretende engravidar. Uma mulher imune não necessita de repetir a serologia numa próxima gravidez.

Devido aos riscos de transmissão da infecção ao feto do vírus da rubéola, durante a gravidez, o estudo dos anticorpos deve ser periódico se a situação o justificar. Uma reacção negativa e isolada, nega a hipótese de infecção, enquanto que uma seroconversão indica rubéola evolutiva, sendo importante a determinação do valor de IgM. A avaliação da seroconversão após a vacinação deve efectuar-se mediante duas colheitas de sangue: a primeira deve fazer-se antes da vacinação e a segunda pelo menos duas

semanas depois da mesma. Um resultado negativo na primeira amostra de sangue com outro positivo na segunda indica que a vacinação foi eficaz. Durante este período a mulher não deve engravidar³⁵.

CITOMEGALOVÍRUS (CMV)

Nestes últimos anos esforços têm sido feitos, no sentido de otimizar os procedimentos de diagnóstico do CMV, pelos problemas crescentes de infecção congénita e de reactivação em terreno de imunodepressão.

A primo-infecção caracteriza-se serologicamente pelo aparecimento de imunoglobulinas da classe IgM numa única amostra³⁷ e pela seroconversão detectada em duas amostras de sangue: uma colhida na fase inicial e outra na fase de convalescência da doença³⁸, podendo manter-se várias semanas a meses depois da infecção³⁹.

A presença de IgM específica deve ser interpretada com cautela, porque enquanto num indivíduo imunocompetente, a reactivação não se acompanha em geral de produção de IgM, nos imunodeprimidos estes anticorpos aparecem em cerca de 50% das recorrências³⁸, além de que a persistência deste tipo de imunoglobulinas depois da infecção é de quatro meses a um ano. Por outro lado é importante referir que nas situações de imunodeficiência adquirida, não é necessária a elevação dos títulos de Acs, para se suspeitar de doença activa.

A serologia permite o diagnóstico de primo-infecção, mediante a seroconversão e a presença de IgM específica, numa única amostra de sangue.

Para o diagnóstico de infecção congénita, a serologia também pode ser útil, mediante a demonstração de IgM específica no sangue do cordão umbilical^{38,40}.

No RN não infectado, o título de Acs é habitualmente inferior ao da mãe, desaparecendo aqueles em dois a três meses.

Uma infecção *in utero* é suspeitada quando o RN tem um título maior do que o da mãe, mas onde a persistência dos Acs, para além dos dois meses é mais significativa de infecção activa, do que o título em si⁴¹.

A detecção de Acs anti-CMV-IgM na primeira semana de vida, leva a um diagnóstico definitivo de infecção congénita; no entanto devido às potenciais complicações de uma infecção congénita, o isolamento do vírus na urina nas primeiras três semanas de vida⁴² é o melhor método de diagnóstico de infecção intra-uterina.

Devido ao facto da IgM-anti-CMV persistir durante alguns meses, após a infecção primária, a sua detecção numa amostra isolada é de valor limitado para determinar o momento de contágio⁴³. Uma resposta IgM específica pode ser observada nos casos de reactivação ou de reinfeccção, assim como no caso de infecção primária pelo CMV.

A ausência de Acs IgM-anti-CMV, não exclui a possibilidade de uma infecção pelo CMV. Nos adultos a IgM-anti-CMV não surge no soro antes da primeira semana depois do aparecimento dos sintomas. Depois da infecção primária, aquele Ac persiste em média dois a nove meses; no entanto em indivíduos transplantados, aquele pode persistir durante períodos mais longos, por vezes superiores a dois anos⁴⁴.

A presença de IgG-anti-CMV, não assegura imunidade contra a doença, visto que pode ocorrer reactivação do

vírus latente; neste caso, a elevação da taxa de Acs para cerca de quatro vezes mais o valor inicial^{4,30,37,45} é indicador de infecção reactivada.

Indivíduos com valores de IgG inferiores a 15 UA/ml não estão infectados pelo CMV, sendo por isso susceptíveis à infecção; valores iguais ou superiores a 15 UA/ml indicam-nos infecção antiga ou recente e, nesta situação, é útil a determinação de IgM-anti-CMV.

Um outro dado serológico que auxilia no diagnóstico de infecção pelo CMV é uma reacção de Paul-Bunnell negativa perante uma síndrome mononucleósica²⁵; aliás são frequentes as reacções cruzadas com os outros vírus do grupo Herpes (VHS, VVZ e EBV)^{41,46}.

Nos transplantados renais, observa-se que aqueles que não têm imunidade para o CMV, e que recebem rins de doadores seropositivos, geralmente desenvolvem infecções no pós-operatório, ao contrário de indivíduos seropositivos antes do transplante, que sofrem frequentemente de reacção assintomáticas⁴⁷.

VÍRUS HERPES SIMPLEX (VHS)

Dois tipos distintos de VHS são conhecidos; ambos têm a capacidade de permanecer num estado latente com recorrências em intervalos regulares.

O diagnóstico de primo-infecção é possível pela seroconversão e pesquisa de IgM específica, numa única amostra de sangue.

Os anticorpos aparecem em quatro a sete dias durante a primo-infecção, atingindo o seu máximo aos quinze-vinte e um dias e persistindo depois vários anos⁴. Nas recorrências a titulação dos ACs já não tem grande valor, porque aqueles níveis mantêm-se quase sempre inalterados⁴⁸.

A reactividade cruzada entre os vírus Herpes do tipo 1 e 2 e ausência de um aumento predizível do título, paralelamente à doença recorrente, são problemas que dificultam o uso de serologias⁴⁶. Os ACs-VHS₁ reagem fortemente com ambos Ag VHS₁ e VHS₂, enquanto que os ACs VHS₂ reagem fortemente com os Ag VHS₂ mas em menor grau com os Ag VHS₁.

A maior parte dos testes utilizados não detecta especificamente infecção pelo VHS₁ ou VHS₂. Se o resultado é positivo para ambos, tratar-se-á provavelmente de uma infecção pelo VHS₂; se o teste é positivo para o VHS₁ e negativo para o VHS₂, então trata-se de uma infecção pelo VHS₁ e finalmente tratar-se-á de uma infecção pelo VHS₂ se o teste é fortemente positivo para o VHS₂ de tal modo que VHS₂ > VHS₁.

Estes testes têm limitações tais como:

— Nos indivíduos imunocomprometidos a interpretação deve ser cuidadosa.

— Um aumento significativo da taxa de Acs não é suficiente para o diagnóstico de encefalite por VHS⁵⁰.

— A ausência de IgM detectáveis não exclui a possibilidade de infecção recente ou recorrente.

— A presença de factor reumatóide (F.R.), na presença de imunoglobulinas M específicas, tal como ocorre no CMV³⁰, pode também interferir, originando um falso positivo.

— É importante a realização de colheitas paralelas na mãe e no RN. A presença de IgM no RN pode ser considerada como indicadora de infecção congénita; se se trata desta última situação os níveis de IgM (e também de IgG)

podem persistir ou aumentar. Pelo contrário, se a fonte dos Acs é a mãe, o nível de Acs no RN diminuirá em paralelo com a semivida das imunoglobulinas.

VÍRUS EPSTEIN-BARR (EBV)

No soro de uma pessoa normal, existem aglutininas naturais anti-hemácia de carneiro, que aumentam no decurso da mononucleose infecciosa^{25,30,51} e é exactamente a pesquisa destes anticorpos heterófilos que constitui a Reacção de Paul-Bunnell-Davidsohn (RPBD).

Estes anticorpos elevam-se após a primeira semana de doença e atingem títulos máximos entre as duas/três semanas, desaparecendo após as seis/oito semanas^{50,52}.

A RPBD é negativa em 20% dos casos de MI e as crianças com infecção primária, raramente têm Acs heterófilos; esta reacção pode dar falsos positivos em situações tais como o linfogranuloma venéreo, doença de Chagas, hepatites víricas, febre tifóide, artrite reumatóide, doença de Hodgkin, etc, embora sejam títulos muito baixos⁵¹.

Perante resultados duvidosos de RPBD, podemos recorrer a outros marcadores:

* Ag da cápside viral (V.C.A.): os títulos de IgM sobem rapidamente após a infecção e estão presentes desde o começo dos sintomas desaparecendo até às 8-10 semanas⁵¹.

A determinação de IgM-anti-VCA é a prova diagnóstica mais específica em quase 100% dos casos⁵², sendo útil quando a RPBD é negativa⁴. Quanto à IgG-anti-VCA, esta atinge um pico na fase aguda da doença e persiste muitos anos em níveis baixos significando que o indivíduo foi infectado e que está protegido contra a infecção⁵³.

Cerca de 80% dos adultos têm IgG-anti-EBV positiva.

* Ag precoce (early antigen-E.A.)

- Difuso.

- Restrito.

Estes dois marcadores estão presentes no soro em cerca de 50/70% dos casos, havendo uma relação entre o seu valor e a incidência de doenças malignas associadas a EBV^{51,54}.

* Ag nuclear (EBNA)-este é de aparecimento tardio⁵² podendo persistir todavia em títulos baixos. Títulos elevados podem estar relacionados com uma distribuição importante de células tumorais (associação conhecida do linfoma de Burkitt e carcinoma da nasofaringe com o EBV)^{51,52,54}.

Em cerca de 20% dos casos de MI, existem testes serológicos positivos para a sífilis²⁵.

HEPATITE A (VHA)

Para confirmação desta virose, temos de recorrer à detecção de anticorpos no soro, porque o vírus habitualmente não se detecta devido ao período de antigenémia ser muito curto⁵⁵.

Se as imunoglobulinas encontradas no soro forem da classe IgM, estamos perante a fase aguda da doença; estas surgem precocemente, por vezes mesmo antes da icterícia, começando depois a declinar após a segunda semana de infecção e desaparecendo após alguns meses⁵⁶, altura em que são detectadas imunoglobulinas da classe IgG, traduzindo uma hepatite em resolução ou imunidade, visto que são estas imunoglobulinas que perduram⁵⁷.

HEPATITE B (VHB)

Para diagnóstico desta doença viral, dispomos habitualmente dos marcadores convencionais que são respecti-

vamente e por ordem cronológica de aparecimento no soro:

a) Ag Hbs — antigénio de superfície ou antigénio Australiana — trata-se de um marcador sérico e hepático, sendo o primeiro a surgir no soro e indicador de uma hepatite B aguda quando os outros marcadores são negativos.

Surge no sangue cerca de seis semanas após a infecção e desaparece nos três meses seguintes se houver uma boa evolução⁵⁸, sendo este período muito variável.

b) Ag Hbe — é um antigénio que está incluído no envólucro viral (proteína solúvel de baixo peso molecular), e que surge concomitantemente ou logo a seguir ao Ag Hbs; é um marcador de replicação viral activa e de elevada infecciosidade⁵⁹.

c) Ac Hbc — é o terceiro marcador a surgir no soro. Inicialmente é uma imunoglobulina da classe IgM que existe durante aproximadamente os primeiros seis meses; A partir desta altura predominam as imunoglobulinas da classe IgG, sendo estas as que perduram durante longo tempo. Ac Hbc é o único marcador presente no período de janela serológica, isto é entre o desaparecimento do Ag Hbs e o aparecimento do respectivo anticorpo⁴⁸.

Na fase inicial da doença pode coexistir com o Ag Hbs e com o Ag Hbe; na fase seguinte pode só coexistir com o Ac Hbe sugerindo uma boa evolução e por fim traduz imunidade quando acompanhado com o Ac Hbs, podendo persistir indefinidamente^{55,56}. A sua presença por si só não tem valor protector⁶⁰.

d) Ac Hbe — geralmente surge após o desaparecimento do Ag Hbe, podendo no entanto e por vezes com ele coexistir. Este marcador traduz o termo da reprodução viral e a redução do estado infeccioso⁵⁸.

e) Ac Hbs — Este é o último marcador a aparecer sendo de persistência longa e podendo coexistir indefinidamente com o Ac Hbc, sendo o responsável pela recuperação e imunidade. É o único marcador que surge no soro de um indivíduo vacinado.

Se o Ag Hbs permanecer positivo no soro para além de seis meses podemos estar em presença de um portador crónico.

QUADRO 1

Ag Hbs	AgHbe	Ac Hbc	AcHbe	Ac Hbs	
+	-	-	-	-	Hepatite B
+	+	-	-	-	(fase aguda)
+	+	+	-	-	
-	-	+	+	-	Hepatite B (em resolução)
-	-	+	-	+	Imunidade
-	-	-	-	+	
+	+	+	-	-	Portador
+	-	+	+	-	crónico

HEPATITE C (VHC)

Desde o momento da infecção até à seroconversão vai um período médio de 3 a 4 meses, pelo que podemos estar perante uma Hepatite C, sem marcador serológico de-

tectável, situação esta que pode prolongar-se até um ano^{58,61}.

A detecção destes anticorpos faz-se inicialmente por ELISA, que é um método qualitativo e que por isso afirma ou nega a presença de anticorpos. Títulos elevados de índice de determinação superiores a 4, são altamente sugestivos, enquanto que títulos mais baixos podem ser duvidosos, pelo que se deve recorrer a testes confirmativos, nomeadamente o teste RIBA⁶¹, particularmente o da 2ª geração que detecta bandas antigénicas precoces (C₃₃c e C₂₂), havendo resultados positivos entre os 15 e 30 dias após a infecção⁶².

Podem existir falsos positivos de VHC em determinadas situações, tais como vasculites, lupus eritematoso sistémico, artrite reumatóide, artrites seronegativas, etc. A técnica de PCR (polymerase chain reaction), para detecção do RNA-VHC, é um método de investigação muito satisfatório a usar como teste confirmativo⁶³.

HEPATITE DELTA (VHD)

Como vírus defectivo que é⁵⁹ este vírus somente se encontra em associação com o VHB^{55-57,64,65}, pois necessita da sua presença para se replicar.

A infecção pode ser simultânea com o vírus B (Co-infecção), havendo em circulação IgM antidelta; posteriormente surgem IgG antidelta, desaparecendo este marcador em cinco a seis semanas, podendo no entanto perdurar até doze meses⁵⁸. Após este tempo pode não ser possível fazer um diagnóstico retrospectivo de infecção pelo VHD. A perda de IgM antidelta confirma a resolução de infecção Delta e a sua persistência aponta para a cronicidade.

A Superinfecção de um portador de Hepatite B pelo VHD, é traduzida pela presença precoce do IgM antidelta, geralmente ao mesmo tempo que a IgG antidelta, podendo assim coexistir ambos os anticorpos⁵⁸ daí que na Superinfecção o marcador mais frequentemente positivo seja o anti-VHD total⁶⁶.

INFECCÃO PELO V.I.H. (VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA)

Os actuais testes serológicos baseiam-se na observação de que na maioria dos indivíduos infectados, desenvolvem-se anticorpos específicos alguns meses após a infecção⁶⁷, sendo um teste positivo identificador de infecção e não necessariamente de doença.

Embora se tenham detectado anticorpos para quase todos os produtos dos genes do VIH, aqueles habitualmente empregues para o diagnóstico serológico, correspondem às proteínas centrais, às glicoproteínas do envólucro ou à transcriptase inversa e endonuclease^{67,68}.

Inicialmente faz-se um teste ELISA misto, que é o mais utilizado, detectando este a presença ou não de anticorpos⁶⁹. Se for positivo teremos de realizar um teste confirmativo para saber se se trata de uma infecção pelo VIH₁ ou VIH₂. O mais utilizado é o Western-Blot (W.B.)⁷⁰, que se considera positivo se se encontrarem anticorpos contra pelo menos duas proteínas do envólucro. Em certos casos pode haver reacções cruzadas, ocorrendo presença simultânea de VIH₁ e VIH₂, não significando isto forçosamente uma infecção dupla, mas sim uma infecção pelo VIH₁ na maioria dos casos⁶⁸; nestas situações deve sempre fazer-se

um teste discriminativo. Apesar dos anticorpos serem habitualmente detectáveis 9 a 12 semanas após a infecção, por vezes pode haver ausência destes, durante um ano ou mais, numa pequena proporção de indivíduos infectados pelo VIH⁷¹; estas pessoas com comportamentos de risco deverão ser reavaliadas com frequência. No início da doença pode não haver ainda duas proteínas do envólucro detectáveis, o que origina um W.B. indeterminado, e o mesmo pode suceder numa fase avançada da infecção pelo VIH em que já se perderam algumas proteínas.

Sempre que o W.B. é indeterminado, devem ser feitas colheitas de sangue seriadas para esclarecimento da situação. Em casos de resultados duvidosos do W. B., está em aperfeiçoamento a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction), que é uma técnica de amplificação do genoma viral, que permite detectar sequências virais do VIH, em indivíduos seronegativos muito tempo antes da seroconversão⁷⁰ bem como em crianças filhas de mães VIH positivas, quando o diagnóstico é incerto^{68,70}. O teste de RIPA (Radioimune precipitação) é também um teste confirmativo de alternativa.

No caso dos recém-nascidos um resultado negativo, não é sinónimo de criança não infectada, bem como a presença de anticorpos na criança também não significa necessariamente infecção da mesma, porque podemos estar em presença de anticorpos da mãe; daí a necessidade de testes periódicos devendo estas crianças ser vigiadas pelo menos até aos dezoito meses, no caso de serem seronegativas.

A determinação do Ag p²⁴ no soro testemunha a replicação viral, quer em casos duvidosos, quer num período inicial de seronegatividade, quer mesmo como marcador prognóstico.

BIBLIOGRAFIA

- LATAPIE, N.J.: Les Immunodosages De la theorie à la pratique, 1989:5-21
- GOODMAN, J.W.: Immunoglobulin structure and function in Daniel P.Stites /Abba I Terr: Basic and Clinical Immunology. 7ª Ed, Prentice-Hall International Inc, 1991: 109-21
- OTTO B.: Mecanismos de defesa contra os agentes infecciosos, in Veronesi: Doenças infecciosas e parasitárias. 7ª Ed, Editora Guanabara. Rio de Janeiro, Brasil, 1987: 1001-15
- PILLY E.: Maladies Infectieuses. 10ª Ed., Editions C et R. La Madeleine, France, 1988: 179-87;194-203;285-90;299-303;302-5.
- OLIVEIRA J. et al: Diagnóstico serológico da Brucelose aguda -A propósito de 36 casos .Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas, 1991; 1 : 29-40
- BERTRAND A.: Aspects actuels de la brucellose. O Médico, 1985; 113(1767):751-6
- BERTRAND A.: Brucellose. EMC - Maladies Infectieuses, 8038 A 10, 5- 1981: 8 -13
- GEDDES A.M.: Febre tifóide, in J-C Pêchère: Como reconhecer, entender e tratar as infecções. 2ª Ed., Organização Andrei Editora LTDA. São Paulo ,Brasil,1986: 271-76
- GOMEZ J.S.: Febre Tifóide, in Veronesi: Doenças Infecciosas e Parasitárias, 7ª Ed., Editora Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil, 1987: 402-13
- RAOULT D: Fièvre Typhoïde. EMC- Maladies Infectieuses, 8019 A 10,9-1986: 1-14
- WARD T.T.; Szebwyi SE: Sexually transmitted diseases, in An MSD Hand book: A practical approach to infectious diseases. 2ª Ed, Ricard E Reese/Robert F Betts. New York, USA, 1987: 359-84
- BELDA W: Sífilis, in Veronesi: Doenças infecciosas e parasitárias, 7ª Ed, Editora Guanabara. Rio de Janeiro, Brasil, 1987: 972-81
- REIN M.F: A Sífilis in J-C Pêchère; Como reconhecer, entender e tratar as infecções. 2ª Ed., Organização Andrei Editora Ltda. São Paulo Brasil, 1986: 419-33.
- ESTEVES J A., BAPTISTA A.P., RODRIGO F.G.: Dermatologia. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1980: 1182-6
- ROSEN T., ORENGO J.F. :Atualização sobre a sífilis e a gonorreia. Aspectos epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos. Revista de Medicina e Cirurgia, 1992; 5/6: 101-4
- CECIL: Essentials of Medicine. 2ª Ed., W.B. Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich J N C. Philadelphia, USA, 1990: 613-16
- NASH T.W., MURRAY HW: The atypical pneumonias, in Pulmonary Diseases and Disorders. Editor; A.P. Fishman. Mac Graw-Hill, Book Company. New York, USA, 1988; Vol 2: 1613-27.
- FARRAR W.E.: Leptospirosis, in Mandell/Douglas/Bennett: Principles and Practice of Infectious Diseases. 3ª Ed. ,Churchill Livingstones Inc. New York, Usa, 1990: 1813-16
- CRESPO J. et al: Leptospirose- A propósito de 5 casos clínicos internados no Hospital de Aveiro. Coimbra Médica, 1988; 9(2): 101-103
- ADLER B., MURPHY A.M., LOCARNINI SA: Detection of specific and antileptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme linked immunosorbent assay Journal of Clinical Microbiology, 1980;11: 452
- LECOUR H., MAGRO F.C., RODRIGUES J.P.: Leptospirose icterohemorrágica Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas, 1977; 1(1) : 45-60
- COLLARES-PEREIRA M., SARAIVA DA CUNHA, J.G., CORTE-REAL R., MELIÇO SILVESTRE A., CARRINGTON DA COSTA R.: Leptospirose humana anictérica na Região Centro de Portugal. Coimbra Médica, 1987; 8 (6): 415-21.
- TIRIBA A.C., MONTEIRO E.V.L.: Riquetsioses, in Veronesi: Doenças Infecciosas e Parasitárias. 7ª Ed., Editora Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil, 1987: 217-9.
- MARTINS L.L.: Febre escarionodular. Revista Clínica, 1990(3): 21-34
- BALCELLS A.: La Clínica Y el laboratorio 11ª Ed., Editorial Marín SA. Barcelona, 1978: 513;547;557
- DACHY A. et al: Infecções e erupções, in J-C Pêchère: Como reconhecer, entender e tratar as infecções. 2ª Ed, Organização Andrei Editora Ltda, São Paulo, Brasil, 1986: 513
- SEXTON D.J.: Rocky Mountain spotted fever, in Conn's : Current Therapy. 41ª Ed., Robert E Rakel, 1989:96-8
- RAOULT D.: Rickettsioses en dehors de la fièvre Q. EMC- Maladies Infectieuses, 8077 G 10, 3- 1988:3
- KCRICK J.A., REMINGTON J.P.: Toxoplasmosis in the adult- an overview. New England Journal of Medicine, 1978; 298: 550
- MAGNUSSEN C.R., CHESSIN L.N.: Infectious Mononucleosis and Mononucleosis- like Syndromes, in An MSD Handbook: A practical approach to infectious diseases. 2 Ed., Ricard E. Reese/ Robert F. Betts. New York, USA, 1987: 463-73
- NAOT Y; GUPTILL D.R., REMINGTON J.S.: Duration of antibodies to Toxoplasma gondii after acute acquired toxoplasmosis. The Journal of Infectious Diseases, 1982; 145:770
- AMBROISE-THOMAS P., GARIN J.P.: Toxoplasmosse. EMC-Maladies Infectieuses, 8098 A 10, 4 -1984:8-10
- NAOT Y; REMINGTON J.S.: An ELISA for detection of IgM antibodies to toxoplasma gondii: Use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. The Journal of Infectious Diseases, 1980; 142(5): 757-66
- FRENKEL J.: Toxoplasmosse, in Veronesi: Doenças Infecciosas e Parasitárias. 7 Ed, Editora Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil, 1987: 780—97
- GRENIER B.: Infecção e Gravidez, in J-C Pêchère: Como

- reconhecer, entender e tratar as infecções. 2 Ed, Organização Andrei Editora LTDA. São Paulo Brasil, 1986: 440-7
36. BEAUCAIRE G; Mouton y Rubéole. EMC Maladies Infectieuses, 8044 A10; 7-1983: 1
37. KAPLAN M H: Diagnosis of some common viral infections: role of polymerase chain reaction, in Mandell/Douglas/Bennett: Principles and Practice of Infectious Diseases. Update 6, 1992.
38. RABELLA N: Diagnostico de las infecciones por Citomegalovirus. Med Clin (Barc), 1990; 95: 18-20
39. GRIFFITHS S S; PASS R.; SMITH R; ALFORD C: Infection With Cytomegalovirus during pregnancy: Specific IgM antibodies as a marker of a recent primary infection. The Journal of Infectious Diseases, 1982; 145: 647-53
40. STAGNO S et al: Congenital cytomegalovirus infection- The relative importance of primary and recurrent maternal infection. New England Journal of Medicine, 1982; 306(16): 945-9
41. PÉROL Y; FERCHAL F.: Les infections à cytomegalovirus. EMC- Maladies Infectieuses, 8052 C 10 ; 4-1982:1
42. Yow M D: Congenital cytomegalovirus disease: a now problem, The Journal of Infectious Diseases, 1989; 159: 35-8
43. WANER J L ; WELLER T H ; STEWART J A: Cytomegalovirus, in Rose N R, Friedman H- Manual of Clinical Immunology. Washington D C- American Society for Microbiology, 1980: 622-7
44. SCHIMIDT N J: Specific viral antibody assays. Update on class. Clinical Immunology Newsletter, 1984 ; 5: 81-5
45. LIMA C et al: Infecções a citomegalovirus: um caso de retinite. O Médico, 1991; 125 (2037): 87-90
46. MACCATO M L ; KAUFMAN R H: Herpes genital. Aspectos Clínicos e laboratoriais e relação com o cancro. Revista de Medicina e Cirurgia, 1991; 6/7; 270-75
47. Pass R F ; Griffiths P D ; August A M: Antibody response to cytomegalovirus after renal transplantation: comparison of patients with primary and recurrent infections. The Journal of Infectious Diseases, 1983; 147 (1): 40-6
48. HURAUX J M; NICOLAS J C; AGUT H.: Virologie. Paris. Flammarion, 1985: 73-84; 248-66
49. CHERNESKY M A ; RAY C G ; SMITH T F :Laboratory diagnosis of viral infections.Cumitech 15. Cumulative techniques and procedures in Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington D C, 1992
50. CHRISTIE A B: Infectious Diseases- Epidemiology and Diseases .2 Ed, Churchill Livingstone. Edinburgh, 1974: 964-82
51. SEIGNEURIN J M ; LENOIR G M: Pratique et interpretation de la serologie virale Epstein- Barr. La Nouvelle Presse Medicale, 1982; 11 (35): 2623-9
52. DÉRY et al: Dor de garganta e febre, in J C Pêchère: Como reconhecer, entender e tratar as infecções, 2 Ed. Organização Andrei Editora LTDA. São Paulo, Brasil, 1986: 73-8
53. SEIGNEURIN J M: Maladies virales à expression différée. La Revue du Praticien, 1985; 35 (47): 2849-56
54. SCHOOLEY R.T.: Epstein-Barr Virus infections including infectious mononucleosis, in Harrison's: Principles of Internal Medicine. 12 Ed, 1988: 689-92
55. SASS M A; CIANFLOCO, A J: Hepatite Viral aguda- Diagnostico Revista de Medicina e Cirurgia, 1991;1; 6-17
56. BUFFET C: Hepatite à Virus- Epidemiologie, diagnostic evolution et prognostic. Principes du traitement préventif et curatif. La Revue du Praticien, 1988; 38 (28): 2101- 6
57. ERGUN G A; MISKOVITZ P F : Viral hepatitis- The new ABC's. Postgraduate Medicine, 1990; 8(5): 69-76.
58. SHERLOCK S: Hepatite viral in Doenças do Fígado e do sistema Biliar. 8 Ed, 1991:215-41
59. FLEGG P J: Avanços recentes no campo da Hepatite Viral Aguda. Pós -graduação. Up date, 1991:3-8
60. SOHIER R et al: Hepatites virales. EMC- Maladies Infectieuses 8065 F 10, 1981-5:6-13
61. DAVIS G L: Hepatitis C virus in Mandell/ Douglas/ Bennett: Principles and Practice of Infectious Diseases. Update 10 ; 1992
62. BARRERAS J.M.: Patterns of antibody response to hepatitis C virus and HCV-RNA in serum in post transfusion Non-A, Non-B. 1º Encontro Nacional de Hepatite C, 1992-Fevereiro- Lisboa
63. CARVALHO A: Problemas Clínicos na Hepatite C. 1º Encontro Nacional de Hepatite C ,1992- Fevereiro- Lisboa.
64. LUNEL-FABIANI F: Le diagnostic des hepatites virales en 1991. La Revue du Praticien 1991; 41 (4): 315-23
65. MENDES T F; PITTELLA A M; SIMONETTI J P: Marcadores virais no diagnóstico da hepatite, Serviço de Hepatologia da Santa Casa do Rio de Janeiro e Fundação Oswaldo Cruz, 1986: 19-27
66. CARVALHO A: Diagnóstico laboratorial das hepatites por Virus. 1º Congresso Internacional sobre Diagnóstico Laboratorial, 1992- Outubro-Coimbra
67. SANDLER S G; DODD R Y; FANG C T: Diagnóstico Serológico da infecção pelo HIV, in SIDA- Etiologia Diagnóstico, Tratamento e Prevenção. 2 Ed, Vincent T De Vita/S. Hellman/S A Rosenberg, Ed Revinter, LTDA, Rio de Janeiro, 1991: 124/39
68. ROUZIUX C : Les pièges de la serologie VIH. La Presse Médicale, 1990; 19 (42) : 19 L 3- 25
69. GRIFFITH B P ; FERGUSSON D; MELHORS, J W: Acute Human Immunodeficiency Virus Infection: false negative ELISA in a patient with viremia and a positive Western-Blott Test. The Journal of Infectious Diseases, 1989; 160 (1): 160-1.
70. ROUZIUX C: BARIN F: Le diagnostic virologique de l'infection à VIH chez la femme enceinte et le nouveau-né. Revue du Praticien, 1990; 40 (2): 99-103
71. VOLBERDING P A: Management of HIV Infection- Treatment Team Workshop. Handbook, World Health Communication. Inc. Ed New York, 1991