

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA MONONUCLEOSE INFECTUOSA

(FEBRE GANGLIONAR DE PFEIFFER)

MANOEL DE BRITO E SILVA

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

A Mononucleose infectuosa observada primeiro por Filatow¹ (1885), pediatra russo, foi descrita por Pfeiffer², em 1889, que a denominou "Febre ganglionar". Moléstia infectuosa aguda, ataca de preferência crianças e jovens, caracterizando-se por febre, entumecimento dos gânglios axilares. A doença tem, sempre, evolução favorável. Nesse trabalho o autor assinala a frequência das "epidemias caseiras". Verificado um caso, raramente escapam as outras crianças da casa.

Inúmeros trabalhos confirmam essas observações e trazem novas luzes sobre o assunto, destacando-se os de Korsakoff³, Lublinsky⁴, Terflinger⁵, Schleissner⁶ e Jones⁷. Outros, como Comby⁸ na França e Neumann⁹ na Alemanha (1891), contestam-nas.

Desplats¹⁰ em 1894 verifica em primeiro lugar que os gânglios inguinais e axilares em geral também aumentam de volume. Em 1896 Park West¹¹ publica um trabalho sobre 96 casos observados em 3 anos, numa epidemia ocorrida no distrito de Ohio e que foram os primeiros estudados na América. Botschkowsky¹² relata uma epidemia, talvez a única em adultos, encontrada num batalhão de soldados. Na Inglaterra, o primeiro trabalho sobre febre ganglionar é de Dawson Williams¹³, publicado em "The Lancet" em 1897. Em 1908 Pfeiffer¹⁴ faz nova comunicação sobre a moléstia, nada porém ajuntando de novo.

Com os primeiros exames hematológicos de Deussing¹⁵, surgiu, em 1918, nova fase para um conhecimento mais perfeito da doença, que se apresenta com uma sintomatologia bastante complexa. Mais tarde, em 1920, Sprunt & Evans¹⁶ denominam "Mononucleose infectuosa" a uma afecção, cujo quadro se apresenta idêntico ao de uma infecção aguda, com ligeira reação ganglionar, discreta esplenomegalia, e quadro hematológico caracterizado por

leucocitose, com aumento dos mononucleares. Tidy & Morley¹⁷ (1921) estudam quadro idêntico, por ocasião de uma epidemia, que identificam como sendo o da Febre ganglionar de Pfeiffer.

Schultz¹⁸, Baader¹⁹ e Deussing¹⁵ descrevem casos semelhantes quanto à parte clínica e hematológica, denominando-os “Angina monocítica”.

Chevallier²⁰ que fez as primeiras observações na França (clínicas e hematológicas) deu-lhe o nome de “Adenolinfoidite aguda”.

Aparecem, então, numerosos trabalhos, salientando-se os estudos sobre as modificações provocadas no sangue e os sintomas predominantes da moléstia. Glanzmann²¹ (1930), numa exaustiva monografia, muito contribue, principalmente na parte hematológica. Lehndorff²² e Schwarz²³ (1932), além da parte hematológica, descrevem duas formas para a moléstia de Pfeiffer, segundo a predominância de sintoma: 1.º) Tipo ganglionar ou de Pfeiffer. 2.º) Tipo anginoso (angina monocítica). Tidy²⁴ (1934) juntou um 3.º tipo — o febril —, no qual o sintoma principal é a febre, sendo este o tipo mais frequente nas epidemias.

Entre nós, só depois de 1930, com a 1.ª observação apresentada pelo Prof. Carini²⁵, e, em seguida, a do Prof. Annes Dias²⁶, é que a classe médica teve a atenção despertada para o assunto.

Assim, em ordem cronológica, aparecem depois os trabalhos de Mário E. Souza Aranha²⁷ (1931), que, dentre as seguintes denominações: “Febre ganglionar de Pfeiffer”, “Linfocitose sub-linfêmica” de Türk, “Mononucleose infectuosa” de Sprunt & Evans, “Angina monocítica” de Schultz e Baader, “Linfoadenose aguda” de MacKinley & Downey e “Adenolinfoidite aguda” com hiperleucocitose moderada e forte mononucleose de Chevalier, propõe a denominação de “Moléstia de Pfeiffer-Türk”. Vem depois A. Nupieri²⁸ (1932). Em seguida, J. Leme Fonseca²⁹ (1932) descreve uma forma, segundo Glanzmann, rara em criança — “Forma icterica da moléstia de Pfeiffer”. Em 1933, Paulo Saes³⁰ publica um trabalho — “Febre ganglionar de Pfeiffer” — onde se refere à súmula feita por Mário Ottoni de Rezende³¹, sobre um trabalho de Schultz. Descreve os sintomas da doença e faz referência sobre o quadro hematológico característico.

Nenhum trabalho, entretanto, havia sido feito entre nós sobre a parte hematológica, até 1936. É J. Oria³² que, nesse ano, nos traz a primeira contribuição, num estudo de duas centenas de casos. Mais tarde, em 1939, o mesmo autor, em colaboração com M. Jan-

ra³³, faz o estudo aprofundado das modificações sanguíneas que caracterizam a Febre ganglionar de Pfeiffer ou Mononucleose infectuosa, designação esta preferida não só pelos autores acima mencionados como pela maioria dos autores americanos, franceses e alemães, e também por nós, neste trabalho, porque em todas as suas formas a doença apresenta um traço comum — a mononucleose sanguínea — e, como veremos mais adiante, a Reação de Paul-Bunnell positiva.

Passadas, assim, em breve revista as bases em que se assentam, até então, as características da Mononucleose infectuosa, vamos agora entrar na parte que nos interessa mais de perto e que constitui o motivo deste trabalho.

Novos horizontes se abrem para o laboratório, após os trabalhos de Paul & Bunnell³⁴ (1932) e as pesquisas de Davidsohn³⁵ (1935), que inauguram a fase sorológica da Mononucleose infectuosa. Vimos como é variada a sintomatologia desta afecção. Em sua forma típica, entretanto, apresenta características bem definidas, que a diferenciam dos outros quadros mórbidos, embora afirme Demanche³⁶ (1939), outro autor que escreveu sobre o valor da reação sorológica na Mononucleose infectuosa, “o quadro clínico está longe de apresentar esta nitidez”. Ao lado de formas sem angina, há formas onde não se verifica aumento dos gânglios e formas com adenopatia localizada: cervical, axilar, inguinal, torácica, abdominal (gânglios mesentéricos), simulando, mesmo, uma infecção aguda do abdômem. Verificam-se, outrossim, formas esplênicas, hepato-esplênicas, ictericas, com sintomas gerais, levando o clínico a pensar em infecção do grupo tifo-paratífico, num estado septicêmico, ou, si aparece algum exantema, leva-os a suspeitar de escarlatina ou rubéola.

Por outro lado vamos ver que o exame hematológico é de inestimável auxílio no esclarecimento diagnóstico desta afecção. Como acentuam Oria & Janra³³ (1939), apresenta, tal exame, características entre as quais se destacam as modificações qualitativas dos mononucleares, que valem mais que um simples aumento quantitativo destas células.

Mesmo assim, estas modificações não são patognômicas. Existem ocasionalmente outras doenças que mostram o mesmo quadro (Downey & Stasney³⁷ — 1935), particularmente, como se refere Davidsohn³⁸ (1937), as infecções agudas do faringe. É sabido também que nos casos em início a elevação da taxa dos mononu-

cleares com as suas atípias, pode falhar, dando-nos no quadro sanguíneo apenas ligeira leucocitose, com contagem diferencial normal ou salientando-se somente uma neutrocitose com discreto desvio para a esquerda (Oria & Janra³³ — 1939). E ficaríamos num impasse, com os dados do laboratório, que nos responderiam apenas por impressões.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Vejamos agora os trabalhos sobre as reações sorológicas que muito deverão contribuir para esclarecimento do diagnóstico da Mononucleose infectuosa, reforçando os dados clínicos e hematológicos.

Os estudos preliminares são de Davidsohn³⁹ (1927), quando, apoiado na descoberta dos antígenos e anticorpos heterófilos, por Forssmann⁴⁰ (1911), fazia uma revisão do assunto. Definiu, então, esse autor — anticorpos heterófilos — os anticorpos que reagem com antígenos inteiramente diferentes e filogeneticamente sem relação com a sua produção.

O mesmo autor⁴¹⁻⁴² (1929-1930) observa que o fenômeno da produção de anticorpos heterófilos pode ocorrer no homem no qual tenham sido injetadas substâncias contendo antígeno heterófilo. Isto foi mostrado por Davidsohn⁴¹, que evidenciou a presença, em título elevado, de hemolisinas e aglutininas, no soro de doentes injetados com soro de cavalo. Acrescenta mais que esse título de hemolisinas e aglutininas é bem mais acentuado, quando nestas pessoas se desenvolve a *doença sérica*. Notou, também, que o soro da grande maioria de pessoas é capaz de aglutinar as hemátias de carneiro, em baixas diluições.

Paul & Bunnell³⁴ (1932), analisando os trabalhos de Davidsohn sobre a existência de anticorpos heterófilos na doença do soro, tiveram a idéia de pesquisar a presença desses anticorpos em um certo número de condições clínicas. Puramente por acidente, observaram que os anticorpos heterófilos, (demonstrados na forma de aglutininas anti-carneiro), existem em altas concentrações no soro dos doentes de Mononucleose infectuosa em título mais alto do que na doença do soro e, mesmo, do que em todas as outras condições estudadas. Posteriormente, têm a confirmação do achado, examinando, na fase aguda, outros casos de Mononucleose infectuosa.

A técnica é a empregada por Davidsohn⁴¹ (1929) para determinar a presença e o título de aglutininas e hemolisinas anti-car-

neiro: soro inativado durante 15' a 55°C.. As quantidades usadas são de 0,5cc. de diluições de soro, começando a 1:4; 0,5cc. de glóbulos de carneiro a 2% são ajuntados e mais 0,5cc. de solução fisiológica. Total 2cc.. Os tubos são agitados e depois colocados em banho-maria, 1 hora, a 38°C., deixados em seguida na geladeira, toda a noite. Na manhã seguinte faz-se a leitura após agitação dos tubos.

Inúmeros trabalhos confirmam as observações de Paul & Bunnell. Destaca-se o de Davidsohn³⁵ (1935) que vai além: modifica a técnica da reação de aglutinação para Mononucleose infectuosa, mostrando que os resultados são não só mais rápidos como mais precisos do que com a técnica adotada nos seus estudos sobre a doença sérica (1929)⁴¹. Baseia-se na observação que o acréscimo da taxa de aglutininas na Mononucleose infectuosa é devido a aglutininas especiais, diferentes das aglutininas dos soros normais, e não pertencentes, como aquelas, ao grupo dos anticorpos heterófilos de Forssmann. Elas não se fixam pelo extrato de rim de cobaio (antígeno de Forssmann) e são absorvidas totalmente por outro antígeno — extrato de glóbulos vermelhos de boi.

Davidsohn³⁸ (1937), estribado nessas observações, melhorou a reação de aglutinação de Paul-Bunnell, tornando-a mais precisa no diagnóstico da Mononucleose infectuosa. Porisso, muitos autores, entre eles Demanche, acham que a reação deve ser chamada de Reação de Davidsohn e não Reação de Paul-Bunnell. Achamos, porém, de justiça conservar o nome de Paul-Bunnell, pois estes autores, apesar de não terem criado a técnica de reação, foram os primeiros a verificar sua constância na Mononucleose infectuosa. Poderíamos denomina-la, então, "Reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn". O termo Reação de aglutinação foi proposto por Sohler & Colab.⁴³ e nós o adotamos porque define a natureza da reação.

TÉCNICA

Empregamos no nosso trabalho a técnica de Davidsohn³⁸ (1937). Ela se processa em 2 fases. Na 1.^a, pesquisa-se o poder aglutinante do soro para as hemátias de carneiro; na 2.^a, verifica-se si as aglutininas anti-carneiro são ou não absorvidas pelos dois antígenos seguintes: extrato de rim de cobaio e extrato de glóbulos vermelhos de boi.

PRIMEIRA FASE

Dosagem das aglutininas anti-carneiro — Retira-se sangue por punção venosa e o soro é inativado a 56°C., 30'.

Dispõem-se 12 tubos de hemólise numa estante. Colocam-se no 1.º tubo 0,4cc. de solução fisiológica; nos demais, 0,25cc. da mesma solução.

Ajunta-se no 1.º tubo 0,1cc. do soro a examinar e já aquecido. Com uma pipeta de 0,01, misturam-se o soro e a solução fisiológica do 1.º tubo; daí, tiram-se 0,25 cc. e colocam-se no 2.º tubo; deste, após a mistura, passam-se 0,25 cc. para o 3.º tubo e assim por diante, até o 12º. Os 0,25 cc. que sobrem desse tubo, põem-se fora. Um 13.º tubo será acrescentado como *controle* e não levará soro, mas conterà 0,25 cc. de solução fisiológica. Temos assim diluições do soro que vão de 1:5 a 1:10.240.

Prepara-se, então, a diluição de glóbulos lavados de carneiro. Segundo Davidsohn⁴¹ (1929), os glóbulos de carneiro devem ser guardados na geladeira e preservados com formalina em diluições a 1:800. Não devem ter mais de uma semana. Comprovamos os seus resultados verificando que a aglutinabilidade dos glóbulos muito frescos é ligeiramente menor que a dos mais velhos. Por isso procuramos usar só glóbulos com 24-48 horas. Distribue-se 0,1 cc. de glóbulos de carneiro a 2% em todos os tubos. Aumenta-se, assim, o título das diluições. O quadro n.º 1, que fizemos à semelhança do apresentado por Davidsohn³⁸ (1937), esclarece toda esta 1.ª fase.

QUADRO N.º 1

Tubos	Solução fisiológica cc.	Sero, cc.	Diluições do soro	Gl. de carneiro a 2% cc.	Diluições finais do soro	Agitam-se bem os tubos; deixa-se a estante c/ os tubos à temperatura do laboratório 2 horas e faz-se a leitura.
1	0,4	0,1	1:5	0,1	1:7	
2	0,25	0,25 de 1:5	1:10	0,1	1:14	
3	0,25	0,25 de 1:10	1:20	0,1	1:28	
4	0,25	0,25 de 1:20	1:40	0,1	1:56	
5	0,25	0,25 de 1:40	1:80	0,1	1:112	
6	0,25	0,25 de 1:80	1:160	0,1	1:224	
7	0,25	0,25 de 1:160	1:320	0,1	1:448	
8	0,25	0,25 de 1:320	1:640	0,1	1:896	
9	0,25	0,25 de 1:640	1:1.280	0,1	1:1.792	
10	0,25	0,25 de 1:1.280	1:2.560	0,1	1:3.584	
11	0,25	0,25 de 1:2.560	1:5.120	0,1	1:7.168	
12	0,25	0,25 de 1:5.120	1:10.240 *	0,1	1:14.336	
Controle						
13	0,25	0,1		

* Descarregam-se 0,25 cc. do último tubo.

Deixa-se a estante com os tubos à temperatura do laboratório, 2 horas. Faz-se, então, a leitura, agitando-se os tubos e verificando-se até que tubo ainda existe a aglutinação das hematias. A olho nú o título é mais baixo do que o verificado ao microscópio, entre lâmina e lamínula. Paul e Bunnell assim classificam os resultados.

- +++ — grupo firme de hematias e líquido claro;
- ++ — grupo que se fracciona em flóculos grandes pela agitação;
- + — aglutinação fina, invisível a olho nú;
- ± — aglutinação microscópica em pequenos grupos isolados.

Os desenhos adiante dão melhor idéia dessas leituras.

Nos indivíduos sãos, sem antecedentes de Mononucleose infectuosa e sem injeção de soro de cavalo, o título de aglutininas varia segundo a maioria dos autores, de 1:3,5 a 1:56., sendo este último título encontrado apenas em 1% dos casos, e dando o título médio igual a 1:20.

Os nossos controles (1), em pessoas sãs, forneceram títulos variáveis, também, entre 1:3,5 e 1:56; a cifra média, porem, foi de 1:28 e, em 25% dos casos, foi de 1:56.

Na Mononucleose infectuosa, o título é, em geral, bem mais elevado podendo alcançar 1:14.336.

Quando encontramos nesta 1.^a fase da reação títulos acima de 1:224, podemos considerar positiva a reação para a Mononucleose infectuosa. Nestes casos uma só dúvida poderia subsistir: si o paciente estivesse em plena doença sérica, após injeção terapêutica de soro. Nestes casos o título varia de 1:56 a 1:224, dando título médio em torno de 1:100. É aqui, então, que temos de lançar mão da 2.^a fase da reação criada por Davidsohn, para interpretação positiva ou negativa para a Mononucleose infectuosa. É a fase que identifica a natureza das aglutininas encontradas. Esclarece si são normais, si são anticorpos de Forssmann desenvolvidos pelo antígeno de Forssmann (soro de cavalo) ou si pertencem ao grupo das aglutininas especiais da Mononucleose infectuosa.

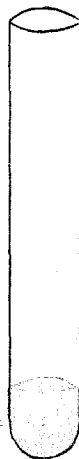
(1) Enviados pelo Instituto de Puericultura, por gentileza do seu Diretor Dr. Otavio G. Gonzaga, pelo que lhe ficamos gratos. Agradecemos também ao Dr. Pujol que examinou estes nossos casos.



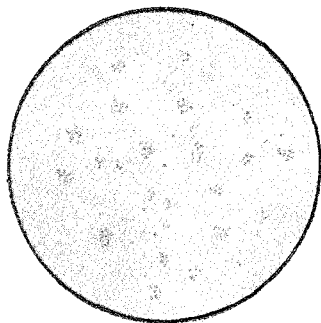
Leitura +++



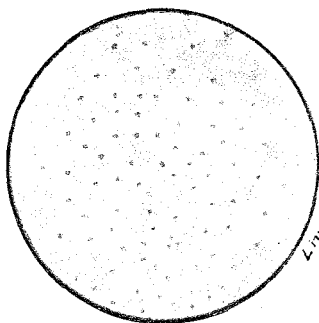
Leitura ++



Leitura +



Micr. +



Micr. -



SEGUNDA FASE

Identificação das aglutininas heterófilas — Usámos dois antígenos: emulsão de hemátias de boi e emulsão de rim de cobaio. A técnica que usamos na preparação destes antígenos é de Davidsohn (1937).

Antígeno de glóbulos vermelhos de boi — As hemátias de boi são lavadas, umas três vezes, bem sedimentadas no centrifugador, depois diluídas a 20% em solução fisiológica, e fervidas 1 hora no banho-maria.

Antígeno de rim de cobaio — Guardam-se os rins na geladeira, até que se precisem deles. São então degelados, lavados repetidas vezes em solução fisiológica até não conterem sangue. São macerados em polpa fina e usados para absorção em suspensão a 20% na solução fisiológica. Este antígeno é também coagulado e estabilizado pelo aquecimento, em banho-maria, 1 hora. A perda por evaporação é recomposta com água destilada. Guardam-se os dois antígenos em frascos na geladeira, usando-se 0,5% de fenol como preservativo, ou melhor, fechando em ampolas de 2 cc., como aconselha Durupt⁴⁵ (1937), o que permite conservar longo tempo, sem antisséptico e sem permanência na geladeira.

A reação será praticada da seguinte maneira: — Colocam-se, em 2 tubos de hemólise, 0,5 cc. dos respectivos antígenos, depois de agitados, e 0,1 cc. do soro a examinar aquecido 30' a 56°C.. Agitam-se e deixam-se à temperatura do laboratório 1 hora. Repete-se a agitação cada 10-15 minutos. Findo este tempo, centrifugam-se 10'. Colocam-se 2 séries de 6 tubos de hemólise numa estante, distribuindo-se em cada 0,25 cc. de solução fisiológica. No 1.º tubo de cada série ajuntam-se, respectivamente, 0,25 cc. do líquido sobrenadante dos tubos centrifugados, que representa uma diluição de soro + antígeno a 1:5. Como na 1.ª fase, tomam-se 0,25 cc. do 1.º tubo, depois de misturados, e passam-se para o 2.º, e assim por diante. Desprezam-se 0,25 cc. do último tubo. As diluições nos 6 tubos ficam entre 1:10 e 1:320. Ajunta-se 0,1 cc. dos glóbulos de carneiro a 2% em todos os tubos. Agitam-se os tubos. As diluições finais dão títulos a 1:14 — 1:28, etc.. Deixam-se as estantes com os tubos à temperatura do laboratório, 2 horas. Faz-se a leitura como na 1.ª fase.

Verificamos com esta leitura qual o efeito absorvente dos 2 antígenos de Forssmann em relação ao título de aglutininas, ano-

tadas na 1.^a fase da reação. Si elas desapareceram totalmente ou em parte, sob a ação deles. Avaliamos em porcentagem a absorpção verificada para cada antígeno. Si não se encontram mais aglutininas no 1.^o tubo a porcentagem de absorpção foi de 100%. Si ainda a encontramos no primeiro, segundo, etc., avaliamos esta porcentagem em relação à taxa de aglutininas encontrada na 1.^a fase da reação. Verificaremos, então, absorpção de 70 — 50 — 40%, etc..

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Normalmente, nos indivíduos sãos, as aglutininas anti-carneiro são inteiramente absorvidas pelo rim de cobaio e incompletamente pelas hemáticas de boi. Este último antígeno absorve apenas 35-50% das aglutininas normais. Segundo Durupt⁴¹ (1937), trata-se de uma propriedade biológica particular e não de um simples fenômeno de absorpção, porque o caolin empregado como antígeno nada absorve e as próprias hemáticas de carneiro, do mesmo modo, usadas como antígeno, absorvem 100% das aglutininas do soro destes mesmos indivíduos.

Ao contrário, quando se trata de aglutininas contidas no soro de pacientes de Mononucleose infectuosa, observa-se o funcionamento inverso, em relação à absorpção pelos dois antígenos: o de glóbulos de boi absorve 100% das aglutininas e o de rim de cobaio apenas 50 a 75%. Esta falha de o rim de cobaio não remover as aglutininas para as hemáticas de carneiro do soro de paciente de Mononucleose infectuosa estabelece, segundo Davidsohn³⁸, que os anticorpos heterófilos na moléstia não são do tipo Forssmann.

Podemos verificar ainda um 3.^o comportamento nesta 2.^a fase: os dois antígenos absorvem completamente as aglutininas do soro. Neste caso, trata-se de aglutininas produzidas pela injeção de soro de cavalo.

O quadro N.^o 2 mostra, comparativamente, o comportamento da Reação de Paul-Bunnell-Davidsohn nas diversas moléstias estudadas e em indivíduos normais.

Ns. dos casos	Procedência	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO											
		1.ª FASE Dosagem das aglutininas										2.ª FASE Identificação das aglutininas	
		1 7	1 14	1 28	1 56	1 112	1 224	1 448	1 896	1 1782	1 3684	% Absorção pelo Rim de cobaia	% Absorção pelo Globul. de boi
II — 24 CASOS COM DIAGNÓSTICOS DIVERSOS — (continuação)													
9	Dr. G. F. Silveira	++	+	±	--	--	--	--	--	--	--	--	--
11	Sta. Casa (I.ª M. H.)	+	±	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
29	Dr. Jairo Ramos	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
31	Dr. A. Taunay	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
49	Dr. G. Fleury	+++	+++	+	+	--	--	--	--	--	--	100	74
III — 11 CASOS DE PESSOAS QUE TOMARAM SORO:													
(1) sem reação sérica						(2) com moléstia de soro							
(1) 84	Inst. Puericult.	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
85	"	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
86	"	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
87	"	+++	+++	++	+	--	--	--	--	--	--	99	100
88	"	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
89	"	+++	+++	++	--	--	--	--	--	--	--	--	--
(2) 26	H Isolamento	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	100
42	"	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	99
43	"	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	97	99
55	"	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	99
56	Dr. L. Sales Gomes	+++	+++	++	++	+	--	--	--	--	--	99	100
IV — 26 CASOS DE MONONUCLEOSE INFECTUOSA													
(clínica e hematologicamente positivos)													
10	Dr. José Oria	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
12	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	87	100
13	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	87	100
14	Dr. M. Brito Silva	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	50	100
15	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	85	100
16	Dr. J. Oria	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
17	Dr. J. Oria	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
18	Dr. S. Jordão	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
19	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	93	93
20	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	100	100
21	Dr. C. M. Barros	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	75	100
22	Dr. M. Sampaio	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	99
27	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	87	100
28	Dr. A. Taunay	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	100	100
30	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	100	99
32	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
33	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
35	Dr. J. Piza	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	50	100
40	Dr. Esp. Santo	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
44*	Dr. L. S. Gomes	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
45*	Dr. L. S. Gomes	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	--
47	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	87	100
48	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	100
50	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	99	99
51	Dr. J. Ramos	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	100	100
52	Dr. G. Fleury	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	74	100

(*) Quadro hematológico inexpressivo para Mononucleose infectuosa.

OBS.: A prova de absorção das aglutininas foi feita com 0,05 e 0,1 cc. dos antígenos para 0,1 cc. do soro, que, segundo Davidsohn (1937), são as quantidades ótimas. Só quando encontramos títulos altos é que empregamos 0,5 cc. dos antígenos.

Agradecemos aos distintos colegas, que colaboraram conosco, enviando-nos material para exame.

RESULTADOS

Os resultados por nós encontrados baseiam-se no estudo de 89 casos, 26 dos quais são, com segurança, de Mononucleose infectuosa. Foram-nos enviados no decorrer de 2 anos, por ilustres colegas, uns pelo interesse que demonstraram em nossas pesquisas, outros para confirmação de um diagnóstico impreciso, tanto clínico como hematológico.

Infelizmente, porém, não conseguimos, em certos casos, dados mais completos, para estudo mais bem orientado e conclusões mais precisas.

Justifica-se essa falha pela dificuldade de verificar-se confirmação posterior dos nossos resultados, visto serem, na maioria, doentes não hospitalizados, de clínicas particulares.

Julgamos, embora sem nenhuma pretensão, ser o nosso trabalho o primeiro aparecido, entre nós, sobre o diagnóstico sorológico da Mononucleose infectuosa.

Para controle de especificidade da reação, praticamo-la em 28 casos de indivíduos sãos, e de história negativa, tanto para Mononucleose infectuosa como para injeções de soro de cavalo. Praticamo-la, ainda, em 1 caso de mal de Hodgkin, 1 caso de artrite reumática, 1 de artrite gonocócica com gonofixação positiva, 5 casos de febre tifóide com exame bacteriológico positivo, e em 6 sangues entrados para Wassermann, no Instituto, sendo dois deles fortemente positivos para sífilis.

Em todos esses casos o resultado foi negativo. Também foi negativo em 9 outros casos que nos foram encaminhados como suspeitos de Mononucleose infectuosa e que, mais tarde, a clínica e a hematologia confirmaram o resultado negativo da reação. A média da taxa de aglutininas encontrada em todos eles foi de 1:28.

Efetuamos, ainda, a reação em 11 indivíduos que tinham tomado soro de cavalo, com fim terapêutico. Esses casos, como tem sido verificado, são os que podem dar elevação da taxa de aglutininas muito acima da encontrada no soro dos indivíduos sãos, trazendo dúvida, quando nos mesmos se pratique a reação com fim diagnóstico para Mononucleose infectuosa. Em 6 que já tinham

tomado soro há alguns meses, a reação foi negativa, dando título em média de 1:28. Dos outros 5 casos, 4 eram de doentes internados no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", (*) acometidos de difteria e em plena moléstia sérica. Nestes, verificamos na 1.^a fase da reação um título muito elevado das aglutininas anti-carneiro, em média de 1:1.097. Extranhamos muito esses resultados, uma vez que se tem observado a elevação do título das aglutininas em pessoas que tomaram soro de cavalo e, principalmente, nas que manifestaram a *doença sérica*. Nunca, porem, encontramos referência a títulos tão altos.

Durupt⁴⁴ (1937), falando a respeito, diz: "em nenhuma outra doença, mesmo na doença sérica, se encontram títulos superiores a 1:448. Esta taxa, obtida no 1.^o tempo, dispensa o 2.^o tempo da reação — o da identificação das aglutininas para Mononucleose infectuosa".

Poderíamos pensar na possibilidade de estarmos diante de casos de pseudo-anginas diftéricas em que o clínico instituisse logo a terapêutica pelo soro, à espera do resultado bacteriológico positivo e que estes, dando positivo para bacilo diftérico, o que aconteceu, fossem casos de portadores de germes, apenas. Analisando, porem, as papeletas destes doentes, orientados pelo ilustre clínico Dr. Pereira Barreto, médico do Hospital de Isolamento e que foi quem examinou e acompanhou os doentes, verificamos ser a hipótese pouco provável. O quadro da temperatura manteve-se na média normal, tendo a doença um curso praticamente apirético. Por outro lado, pensamos numa associação com a Mononucleose infectuosa, como já há observações a respeito. Também não julgamos provável a hipótese, pois o Dr. Pereira Barreto nada encontrou nesses doentes que fizesse suspeitar a intercorrência de Mononucleose infectuosa e todos os casos reagiram especificamente à terapêutica pelo soro, o que não aconteceria com tal complicação.

Contra a hipótese ainda da interferência da Mononucleose e de estes títulos altos correrem por conta de falhas da reação de aglutinação, acha-se o fato de, ao se efetuar a 2.^a fase da reação (identificação das aglutininas), verificarmos que elas foram absorvidas 97-100% pelos 2 antígenos — comportamento normal para as aglutininas encontradas nas doenças séricas.

(*) Agradecemos ao Diretor do H. Isolamento, Dr. J. A. Arantes, por nos ter franqueado o Hospital e fornecido as papeletas dos doentes em estudo. Extendemos nossos agradecimentos ao Dr. Luis P. Barreto que nos deu esclarecimentos sobre os casos em apreço.

Vejam agora o comportamento da reação de aglutinação nos 26 casos de Mononucleose infectuosa que estudamos.

Não entraremos em suas particularidades clínicas e hematológicas. De uma maneira geral, entretanto, encontramos em todos eles o quadro hematológico característico, acompanhado de sintomatologia clínica perfeitamente idêntica à da Mononucleose infectuosa.

Segundo indagação que fizemos junto aos clínicos que nos enviaram estes materiais, sobre o curso da doença, tivemos a confirmação de se tratar, sem dúvida, de Mononucleose infectuosa.

Destes 26 casos, 21 concordaram clínica, hematológica e sorologicamente (1.^a fase da reação de aglutinação). Nestes casos a reação de aglutinação foi positiva num título que variou de 1:56 a 1:1792 (título médio 1:345). Confirmamos as observações de Bernstein⁴⁵ (1940) e Werlin & Colaboradores⁴⁶ (1941) que os soros positivos, guardados na geladeira, conservam-se inalteráveis por meses. Podemos assim mante-los em estoque para controle da reação de aglutinação em soros desconhecidos.

Dos 5 casos restantes, 3 concordaram somente sob o ponto de vista clínico e hematológico (casos 10, 16 e 17) e os outros 2, sob o ponto de vista clínico e sorológico (casos 44 e 45).

A negatividade de um dos exames nestes 5 casos não implica, entretanto, na alteração diagnóstica, pois sabe-se, por um lado, que o quadro hematológico característico pode aparecer tardiamente (Davidsohn³⁸ — 1937) e por outro lado, tem-se observado que a reação de aglutinação também pode aparecer tardiamente e até 5 semanas depois, (Demanche³⁶ — 1937) encontramos a reação de aglutinação positiva. Cabe aqui mencionar as palavras de Davidsohn³⁹, na discussão do seu trabalho de 1937, quando diz “há razão para presumir que existem 2 tipos de Mononucleose infectuosa — o soro positivo e o soro negativo”.

Passemos aos resultados obtidos com a 2.^a fase da reação: identificação das aglutininas.

Dos 23 casos sorologicamente positivos para Mononucleose infectuosa, ficamos impossibilitados de efetuar a 2.^a fase em 6 casos, devido à escassez de material que conseguimos. Em 8 casos, com título médio de 1:147, tivemos uma absorpção de, praticamente, 100% com os dois antígenos (rim de cobaio e hemátias de boi). Esta absorpção total, como já vimos, só se dá com as aglutininas provocadas pelas injeções de soro de cavalo e não com as

aglutininas anti-carneiro encontradas no soro dos doentes de Mononucleose infectuosa, como eram os casos. Com estes 8 casos deveríamos observar, como nos demais, na 2.^a fase da reação, uma absorpção parcial (50-75%) pelo rim de cobaio e total pelas hemátias de boi (casos 19, 20, 22, 28, 30, 48, 50 e 51).

Quanto tempo duram os caracteres sorológicos da doença? Segundo alguns autores, as aglutininas persistem por espaço de tempo variável. Para Davidsohn³⁸ (1937), de sua aparição (que se dá geralmente do 4.^o para o 8.^o dia) até que se encontre um título abaixo de 1:56, varia de 50 a 296 dias. Para Durupt⁴⁵, as taxas limites de 1:56 — 1:112 perduram 90-120 dias. Observa ainda este autor que “a cura sorológica precede sempre a cura hematológica porque o equilíbrio leucocitário ainda não foi restabelecido e já as aglutininas desapareceram”.

CASO A DISCUTIR

Caso 25 — R. M., 24 anos, branco. Há 2 meses teve angina e fez amidaletomia. Cerca de 20 dias atrás, apareceu-lhe um gânglio na região sub-maxilar que, dia a dia, aumentava de volume. Apresentava febre e tinha sudorese. Começou a sentir, então, leve dor de cabeça. Atualmente a febre aparece sempre à tarde (cerca de 37^o,4), a dor de cabeça é mais intensa e o gânglio, doloroso à apalpação, apresenta-se do tamanho de uma pequena laranja. Em 31-7-40, o Dr. J. Oria, da Faculdade de Medicina, envia-nos o doente com a suspeita de Mononucleose infectuosa junto com o seu exame hematológico, feito no dia anterior, e que acusava 25,8% de linfócitos e 5,9% de monócitos, concluindo por um hemograma inexpressivo.

Tirando sangue do doente nessa ocasião para a reação de aglutinação, deu esta, na 1.^a fase, um título 1:448 sendo que, na 2.^a, houve absorpção parcial das aglutininas pelos dois antígenos.

Uma outra contagem, repetida em 2-8-40, nada de extraordinário apresentou. Dias após, é feita a punção do gânglio, cujo resultado foi: gânglio compacto, trabecular, neutrofilia absoluta com eosinófilos, plasmócitos e vários monócitos. Não foram encontrados cogumelos. Achava-se o gânglio em via de supuração com granulação inespecífica. Pouco tempo depois, feita a biópsia do gânglio, encontraram-se Actinomicetos.

Estaremos aqui diante de um caso de falha da reação ou de uma associação de Febre ganglionar de Pfeiffer com Actinomicose?

Não tendo elementos clínicos suficientes para comprovação de uma associação com Mononucleose infectuosa e não tendo, também, a 2.^a fase da reação funcionado especificamente nos mostrando a natureza das aglutininas que apareceram em título tão alto, não podemos tirar uma conclusão exata. Levando-se em conta, porém, que o achado hematológico foi, por 2 vezes, inexpressivo para Pfeiffer e que a biópsia acusou — gânglio em via de supuração com granulções inespecíficas —, julgamos que a falha da reação é a hipótese mais provável neste caso.

CONCLUSÃO

Pelo exposto vemos que a reação de aglutinação comportou-se na 1.^a fase praticamente em paralelo com o diagnóstico clínico e hematológico da Mononucleose infectuosa.

Quanto à 2.^a fase, verificamos que em 8 casos, contra a expectativa, houve uma absorção total das aglutininas dos soros pelos dois antígenos, contrariando o diagnóstico. Estes casos tinham, entretanto, sido diagnosticados clínica e hematologicamente como típicos para febre ganglionar de Pfeiffer. Os doentes não tinham tomado soro. O fato vem mostrar que, provavelmente, houve influência de causas estranhas e ainda não previstas na fase de identificação das aglutininas.

Julgamos, no entanto, ser a Reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn ótimo elemento de comprovação diagnóstica nos casos típicos de Mononucleose infectuosa, ao lado dos dados clínicos e hematológicos. Nos casos atípicos, pode esclarecer muitos diagnósticos hesitantes.

Consideramos de valor a generalização do uso desta reação, entre nós, o que já constitui prática corrente em diversos países.

Os soros positivos conservam-se inalteráveis por meses, na geladeira. Podem ser guardados em estoque para controle da reação de aglutinação em soros desconhecidos.

RESUMO

O A. praticou a reação de aglutinação de Paul-Bunnell-Davidsohn em 89 casos e a controlou com casos normais e várias doenças — febre tifóide, artrite reumática, artrite gonocócica, mal de Hodgkin. Em todos eles a reação de aglutinação resultou negativa. Achou o título de 1:56 em 28%.

A 2.^a fase da reação também se comportou especificamente para casos normais. Os glóbulos vermelhos de boi absorveram em média 50% das aglutininas e o rim de cobaio 100%.

Dos 26 casos referentes a Mononucleose infectuosa, o A. obteve, com a 1.^a fase, 21 reações positivas, concordando 19 deles com o diagnóstico clínico e hematológico e 2 apenas com o resultado clínico. Os outros 3 foram negativos para a reação de aglutinação, discordando deste modo do resultado clínico e hematológico, positivos.

Na 2.^a fase, deixou de executar a reação em 3 casos, por negativos na 1.^a fase (1:7 — 1:14), e, em 5 mais, por falta de soro. Nos restantes observou comportamento específico das aglutininas da Mononucleose infectuosa (absorção incompleta pelo rim de cobaio e total pelos glóbulos vermelhos de boi), exceto para 8 casos em que verificou absorção total com os 2 antígenos. Julga, por este fato, possível existirem causas, ainda não determinadas, que perturbem o funcionamento específico da 2.^a fase da reação. Encontrou, num caso de Actinomicose, a reação de aglutinação positiva a 1:448. Pelos exames efetuados julga tratar-se de um caso de falha da reação.

Acha que a reação de aglutinação é um ótimo elemento diagnóstico, ao lado dos dados clínicos e hematológicos, e que pode esclarecer casos atípicos. Finalmente, preconiza o seu uso entre nós.

* * *

Somos especialmente gratos ao Dr. J. P. de Carvalho Lima, Diretor do Instituto Adolfo Lutz, que nos sugeriu o tema deste trabalho e nos orientou na confecção do mesmo.

Agradecemos também ao Dr. Luis de Sales Gomes que, não só colaborou trazendo-nos material para estudo, como dando-nos sugestões sobre algum ponto técnico do nosso trabalho; e, ao Dr. Augusto E. Taunay, que nos auxiliou na parte hematológica.

Ao Sr. Antonio Amorosino, técnico do Instituto, os nossos agradecimentos pela sua ajuda na execução das reações.

SUMMARY

The A. made de Paul-Bunnell-Davidsohn agglutination test in 89 cases, and controled it with normal cases and several diseases as typhoid fever, rheumatic arthritis, gonococal arthritis, Hodgkin

disease. In all these cases the agglutination was negative. The titer 1:56 was obtained in 28%.

The second part of the reaction showed also a specific behaviour in normal cases. Ox erythrocytes absorbed in medium 50% of the agglutinins, and the guinea-pig kidney 100%.

Out of the 26 cases of Infectious Mononucleosis, the A. has obtained, in the first part of the test, 21 positive reactions, 19 of which in accordance with the clinical and haematological diagnosis, and 2 of them in accordance with the clinical results only. The three others were negative to the agglutination test, therefore in disaccordance with the clinical and haematological results, which were positive.

In the second phase, the A. did not try the reaction in three cases, as they were negative in the first phase (1:7 — 1:14) and, in five others, because the serum was not sufficient. In the other cases he observed a specific behaviour of the agglutinins to Infectious Mononucleosis (incomplete absorption by guinea-pig kidney and total absorption by ox erythrocytes), except for 8 cases in which he verified total absorption by the 2 antigens. The A. believes that there may be yet undetermined causes which hinder the specific function of the second part of the reaction. In an Actinomycosis case a positive agglutination test 1:448 was obtained. By the performed examinations he thinks that this is due to a failure in the reaction.

The A. thinks that the reaction is a very good diagnostical factor aside the clinical and haematological results, and that it may be useful in atypical cases. Finally, he preconizes its use among us.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FILATOW, N. — 1885 — Infektionskrankheiten d. Kindesalters.
- 2 — PFEIFFER, E. — 1889 — Jahrb. f. Kinderh., XXIX, 257.
- 3 — KORSAKOFF, N. S. — 1905 — Arch. f. Kinderh., XLI, 321; XLII, 193.
- 4 — LUBLINSKY, W. — 1907 — Ztschr. f. klin. Med., 62, 170.
- 5 — TERFLINGER, F. W. — 1908 — Journ. Am. Ass., 50, 765.
- 6 — SCHDEISSNER, F. — 1911 — Wien klin. Wehuschr., 24, 310.
- 7 — JONES, G. I. — 1908 — Am. Jour. Med. Sci., 135, 346.
- 8 — COMBY, J. — 1894 — Med. Infant., 1, 15.
- 9 — NEUMANN, H. 1891 — Berl. klin. Woch., p. 1227.
- 10 — DESPLATS, H. — 1894 — Jour. Des Sci. Méd. de Lille, 31, 71.
- 11 — PARK WEST — 1896 — Arch. of Pediatrics, 189, XIII, 889.
- 12 — BOTSCHKOWSKY — 1900 — Wojenni Med. Jour., p. 2383.

- 13 — DAWSON WILLIAMS — 1897 — *The Lancet*, 1, 160.
- 14 — PFEIFFER, E. — 1908 — *Kahrb. f. Kinderh.* 29, 257.
- 15 — DEUSSING, R. — 1918 — *Deut. med. Woch.*, 44, 513.
- 16 — SPRUNT & EVANS — 1920 — *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 31, 410.
- 17 — TIDY & MORLEY — 1921 — *Brit. Med. Jour.*, 1, 452.
- 18 — SCHULTZ, W. — 1922 — *Deut. med. Woch.*, p. 1495.
- 19 — BAADER, E. — 1922 — *Deut. Arch. f. klin. Med.*
- 20 — CHEVALLIER, P. — 1928 — *Sang*, 2, 166.
- 21 — GLANZMANN, E. — 1930 — *Das lymphaemoide Drüsenfieber*, Berlin, edição v. Korger.
- 22 — LEHNDORFF, H. — 1932 — *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.*, 42, 775.
- 23 — SCHWARZ, E. — 1932 — *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.*, 43, 1.
- 24 — TIDY, H. LETHEBY — 1934 — *The Lancet*, 2, 180-186 e 236-240.
- 25 — CARINI, A. — 1930 — *Fol. clinica et Biol.*, 2, 166.
- 26 — ANNES DIAS — cit. por Mário E. Souza Aranha (27).
- 27 — SOUZA ARANHA, M. E. — 1931 — *Fol. clin. et Biol.*, 3, 1, 1-13.
- 28 — NUPIERI, A. — 1932 — *Rev. Ass. Paul. med.*, 1, 2, 142-145.
- 29 — FONSECA, J. L. — 1932 — *Pediat. prat. S. Paulo*, 4, 6, 275-282.
- 30 — SAES, P. — 1933 — *Rev. Ass. Paul. med.*, 7, 1, 43-49.
- 31 — REZENDE, M. O. — cit. por Paulo Saes (30).
- 32 — ORIA, J. — 1936 — *Lat. med.*, 2, 5, 94-97.
- 33 — ORIA, J. & JANRA, M. — 1939 — *Ann. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 15, 53.
- 34 — PAUL & BUNNELL — 1932 — *The Amer. Jour. of the Med. Sci.*, 183, 90-104.
- 35 — DAVIDSOHN, I. — 1935 — *Arch. Path.*, 19, 841-880.
- 36 — DEMANCHE, R. — 1939 — *La Presse Medicale*, 92-93, 1614-1615.
- 37 — DOWNEY, H. & STASNEY, J. — 1935 — *Jour. of the Am. Med. Ass.*, 105, 764-768.
- 38 — DAVIDSOHN, I. — 1937 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 108., 4, 289-295.
- 39 — DAVIDSOHN, I. — 1927 — *Arch. of Path.*, 4, 776-806.
- 40 — FORSSMANN, J. — 1911 — *Biochemische Zeitschrift*, 37, 78.
- 41 — DAVIDSOHN, I. — 1929 — *The Jour. of Immunology*, 16, 259-273.
- 42 — DAVIDSOHN, I. — 1930 — *The Jour. of Immunology*, 18, 31.
- 43 — SOHIER, J., BARNET & BERNIER, G. — 1939 — *Bull. et Mém. de la Soc. med. des Hôp. de Paris*, 5 Juin, n.º 13, 846.
- 44 — DURUPT, A. — 1937 — *La Presse Medicale*, 68, 1219-1220.
- 45 — BERSTEIN, — 1940 — *Medicine Baltimore*, 19, 85.
- 46 — WERLIN, S. J. & COLABORADORES — 1941 — *Am. Jour. of Med. Sci.*, 201, 4, 474.