

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA INFECÇÃO POR EPSTEIN-BARR: UMA REVISÃO DA LITERATURA

MOLECULAR DIAGNOSIS OF EPSTEIN-BARR INFECTION: A REVIEW OF THE LITERATURE

Albert Eduardo Silva Martins
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos – Paraíba - Brasil
martinsaes1@hotmail.com

Izadora Ramony Leite Silva
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos – Paraíba - Brasil
izadora_ramony@hotmail.com

RESUMO

Objetivo: Revisar as principais técnicas moleculares de identificação do EBV.

Métodos: Este estudo trata-se de uma revisão da literatura mediante a busca eletrônica de artigos científicos indexados nas bases de dados Scientific Eletronic Library Online (SCIELO), National Library of Medicine (PUBMED).

Resultados: O EBV é um vírus que infecta mais de 90% da população mundial, ocorre comumente na infância de forma assintomática, mais tardiamente na adolescência ou na fase adulta ocorre o desenvolvimento de uma doença linfoproliferativa benigna denominada mononucleose infecciosa, onde o diagnóstico é feito através de técnicas sorológicas e moleculares, tais como: PCR, qPCR.

Conclusões: Com base no estudo, pode-se concluir que mesmo havendo outros métodos de diagnóstico para o EBV o campo da biologia molecular onde podemos destacar a PCR, vem crescendo e se mostrando cada vez mais eficiente.

Palavras-Chave: PCR. Diagnóstico Molecular. EBV.

ABSTRACT

Objective: Review the main molecular techniques for identifying EBV

Methods: Methods: This is a review of the literature through the electronic search of scientific articles indexed in the Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Library of Medicine (PUBMED) databases.

Results: EBV is a virus that infects more than 90% of the world's population. It occurs commonly in childhood asymptotically, later in adolescence or in adulthood the development of a benign lymphoproliferative disease called infectious mononucleosis occurs. serological and molecular techniques, such as: PCR, qPCR.

Conclusions: Based on the study, it can be concluded that even though there are other diagnostic methods for EBV, the field of molecular biology where PCR can be highlighted has been increasing and proving to be increasingly efficient.

Keywords: PCR. Molecular Diagnosis. EBV.

1. Introdução

O vírus Epstein-Barr (EBV) é um componente da família *herpesviridae*, subfamília *gamaherpesvirinae* e do gênero *lymphocryptovirus*, sendo o único representante deste

gênero em humanos^{1,2}, há dois sorotipos de vírus, EBV-1 e EBV-2³, o EBV-1 é o mais comum e de prevalência mundial, o EBV-2 é encontrado principalmente na África equatorial⁴, a infecção primária normalmente acontece muito cedo, ainda na infância, na maior parte das vezes é assintomática e o vírus fica latente por toda a vida^{1,5,6}, quando a infecção ocorre tardiamente, pode existir o desenvolvimento de uma doença linfoproliferativa benigna, denominada mononucleose infecciosa⁷.

Os humanos são os únicos reservatórios conhecidos do EBV o qual pode ser encontrado em secreções da orofaringe sendo transmitidos pela saliva. A infecção das glândulas salivares e dos tecidos linfóides da orofaringe causam viremia que atinge o sistema linforeticular, incluindo o fígado o baço e os linfócitos B no sangue periférico⁸.

Os aspectos clínicos clássicos da doença consistem na tríade composta de febre alta, faringite e linfadenomegalia^{9, 10}. Um aspecto expressivo em relação à febre é a preservação do estado geral mesmo em doentes com temperatura muito elevada (até 40,5°), algo observado apenas em infecções bacterianas¹¹.

Antes de realizar a avaliação laboratorial necessita-se fazer uma boa anamnese, incluindo história pregressa completa da doença, história familiar, atividade sexual sem preservativo, uso de drogas injetáveis³ o hemograma pode mostrar leucometria normal ou presença de leucocitose^{10, 12}, as aminotransferases (ALT e AST) encontram-se elevadas em até 90% dos casos e a concentração sérica de bilirrubina também aumenta em até 40% das situações^{10,13}. Os testes de Paul Bunnell Davidhson e o teste de Monospot identificam anticorpos heterófilos lançados pelos linfócitos infectados. Apesar disso, esses testes são inespecíficos e hoje se utilizam testes sorológicos específicos para detecção de anticorpos de classe IgG e IgM pelo processo de Imunofluorescência Indireta ou Enzimaimunoensaio (ELISA)⁸, outra metodologia utilizada para o diagnóstico, também com boa especificidade é a técnica do Southern blot, que distingue infecção ativa ou latente^{14,15}.

A técnica da PCR permite que uma região alvo do DNA seja ampliada várias vezes, empregando nucleotídeos, sequências iniciadoras (*primers*) e enzimas polimerases. Assim, é possível adquirir muitas cópias de uma sequência específica de ácido nucléico a partir de uma fita molde¹⁶. Além disso, nos últimos anos vêm crescendo a bom emprego da PCR em tempo real (qPCR) na análise da infecção, constituindo-se uma técnica de detecção e quantificação de ácidos nucléicos com alta sensibilidade e rapidez. A qPCR é uma técnica concisa, reproduzível e gera o nível de amplificação durante a fase exponencial da reação¹⁷. A maior vantagem da PCR em tempo real para o diagnóstico é a análise quantitativa das amostras, que é particularmente importante para o diagnóstico e tratamento de pacientes transplantados e imunocomprometidos¹⁶.

Esse trabalho tem como objetivo revisar as principais técnicas moleculares de identificação do EBV.

2. Métodos

Trata-se de uma revisão de literatura, baseada na busca eletrônica de artigos científicos indexados nas bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Pubmed. Para a pesquisa dos artigos foram utilizadas as seguintes palavras-chaves: EBV, Mononucleose Infecciosa, PCR e diagnóstico molecular. Com isso, foram discutidos os resultados das citações bibliográficas com o intuito de enriquecer as informações com base científica no tema.

3. Resultados

Os resultados foram obtidos a partir de 30 artigos científicos, dentre eles 15 selecionados para a elucidação do presente trabalho e o alcance dos seus objetivos. Segundo a literatura encontrada foi visto que o EBV infecta mais de 90% da população mundial, ocorre comumente na infância de forma assintomática, mais tardiamente na adolescência ou na fase adulta ocorre o desenvolvimento de uma doença linfoproliferativa benigna denominada mononucleose infecciosa, há dois sorotipos de vírus o EBV 1 e 2, a transmissão acontece por via oral-oral, o diagnóstico pode ser feito por meio de técnicas sorológicas e principalmente por técnicas moleculares que apresentam uma boa especificidade e sensibilidade, dessa forma a PCR e a qPCR são utilizadas como técnicas de escolha para o diagnóstico do EBV pois detectam o material genético do vírus e monitoram a carga viral.

4. Discussão

A mononucleose infecciosa é originada pelo vírus Epstein-Barr, podendo causar diversas manifestações clínicas. Normalmente nas crianças permanece em latência, enquanto que em adolescentes e adultos podem apresentar alguns sintomas, tais como: febre, adenopatias, faringite entre outros¹⁸. Contudo, na maioria dos casos essas manifestações clínicas são benignas e apresentam um bom prognóstico. Porém, existem relatos de indivíduos com MI cronicamente infectados amplamente descritos na literatura¹⁹. Nesse contexto, um exemplo foi citado no estudo de Oliveira et al, como a infecção ativa crônica por EBV considerada uma doença rara cuja duração é maior que seis meses, com acentuada elevação dos títulos de DNA viral no sangue e evidências de comprometimento orgânico, incluindo hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia generalizada, pneumonite, uveíte ou acometimento neurológico²⁰.

De acordo com Hurt e Tamaro, existem dois sorotipos de EBV o 1 e 2³. Sendo o primeiro de distribuição mundial, e o segundo mais prevalente na África equatorial²¹.

As recorrências da MI são raras, a taxa de mortalidade estimada é de 1 em 3.000 casos, destacando-se as relacionadas as complicações do sistema nervoso central. Valendo ressaltar, que nesses acontecimentos de infecção por EBV seguidos com alterações neurológicas na maioria das vezes são assintomáticas, e quando sintomáticas os sintomas não são característicos do vírus. Nesse contexto é necessário um diagnóstico rápido e preciso, para possível diminuição de suas consequências²².

Numa análise comparativa das técnicas laboratoriais para o EBV, foi evidenciado que o isolamento viral é uma das principais técnicas utilizadas para o diagnóstico desse vírus, quando comparada com a eficácia da PCR^{23,24}, sendo vista como uma técnica lenta devido a obtenção dos seus resultados variarem de sete a quinze dias além de ser uma técnica trabalhosa e desperdiciosa^{25,24}. Outros métodos descritos foram os testes sorológicos sendo considerados úteis para a confirmação de infecções recentes como também passadas. No entanto, de acordo com a OMS o uso da sorologia para o diagnóstico viral está cada vez mais reduzido, em razão do mesmo apresentar uma baixa especificidade e sensibilidade levando um quadro de dúvidas quanto aos seus resultados. Diante dessas desvantagens é notória, a necessidade do desenvolvimento e utilização de novas técnicas, justificando a implantação dos testes moleculares, destacando-se a reação em cadeia polimerase²⁶.

Penello et al, em seus estudos consideram a PCR como a principal técnica capaz de detectar quantidades mínimas do genoma viral, tanto em pacientes sintomáticos quanto em assintomáticos, por essa razão é possível a diminuição dos casos mais graves dessa infecção viral²⁴. Com relação aos casos de pacientes transplantados e imunocomprometidos outro estudo ressalta a vantagem da PCR em tempo real pela qual faz a análise quantitativa das amostras tornando possível a detecção do vírus e o grau de comprometimento do indivíduo²⁷.

5. Conclusão

Podemos concluir que com o avançar tecnológico as técnicas moleculares têm se tornando cada vez mais frequentes, tendo em vista sua boa especificidade e sensibilidade. O uso de técnicas de biologia molecular como a reação em cadeia da polimerase (PCR) ou a PCR quantitativa (qPCR) tem sido avaliada para o diagnóstico e o prognóstico das condições mórbidas relacionadas com o EBV. A detecção do DNA do vírus no sangue periférico ou no soro pela reação em cadeia da polimerase (PCR) fornece uma boa evidência de que o doente tenha sido infectado pelo EBV.

Referências

1. Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M., & Griffin, D. E. (2001). *Fields virology*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pa.
2. Rodrigues, J. N. M. *Caracterização molecular do Epstein-Barr vírus (EBV) em pacientes portadores de HIV, em tratamento, atendidos no sistema hospitalar do sistema penitenciário do Estado de São Paulo* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
3. Hurt, C., & Tamaro, D. (2007). Diagnostic evaluation of mononucleosis-like illnesses. *The American journal of medicine*, 120(10), 911-e1.
4. Lopes, A. C. (2009). Tratado de clínica médica. In *Tratado de clínica médica*. Roca.
5. Fachiroh, J., Schouten, T., Hariwiyanto, B., Paramita, D. K., Harijadi, A., Haryana, S. M. & Middeldorp, J. M. (2004). Molecular diversity of Epstein-Barr virus IgG and IgA antibody responses in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of Indonesian, Chinese, and European subjects. *The Journal of infectious diseases*, 53-62.
6. Goldenberg, D., Benoit, N. E., Begum, S., Westra, W. H., Cohen, Y., Koch, W. M., ... & Califano, J. A. (2004). Epstein-Barr virus in head and neck cancer assessed by quantitative polymerase chain reaction. *The Laryngoscope*, 114(6), 1027-1031.
7. Sprunt, T. P., & Evans, F. A. (1920). Mononuclear leucocytosis in reaction to acute infections ("infectious mononucleosis"). *Bull. Johns Hopkins Hosp*, 31(Nov.), 410.
8. Kuschnaroff, T. M., Berrocal, T. G., Klautau, G. B., Chiattonne, C. S., Jr, D. M. L., de Souza, J. F., ... & Barbosa Jr, S. P. Prevalência da infecção pelo vírus Epstein-Barr em voluntários doadores de sangue e indivíduos com AIDS na cidade de São Paulo.
9. Wolff, M. A., & Focaccia, R. (2002). Mononucleose infecciosa (infecção pelo vírus Epstein-Barr). In *Tratado de infectologia: v. 1*(pp. 446-450). Atheneu.
10. de Oliveira, J. L., Freitas, R. T., Arcuri, L. J., Gomes, A. P., Vitorino, R. R., Rodrigues, D. C., ... & Siqueira-Batista, R. (2012). O vírus Epstein-Barr e a mononucleose infecciosa. *Rev Bras Clin Med. São Paulo*, 10(6), 535-43.
11. Grotto, I., Mimouni, D., Huerta, M., Mimouni, M., Cohen, D., Robin, G., ... & Green, M. S. (2003). Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults. *Epidemiology & Infection*, 131(1), 683-689.
12. Pasquotto, J. (2008). Detecção e quantificação do vírus Epstein-Barr pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (real time PCR) em pacientes transplantados de células hematopoiéticas e coinfeção com o citomegalovírus.
13. Calixto-Lima, L., & Reis, N. T. (2012). *Interpretação de exames laboratoriais aplicados à nutrição clínica*. Editora Rubio.
14. Miller, G. (1974). The oncogenicity of Epstein-Barr virus. *The Journal of infectious diseases*, 130(2), 187-205.

15. Fellner, M. D., Durand, K., Correa, R. M., Redini, L., Yampolsky, C., Colobraro, A., ... & Picconi, M. A. (2007). Circulating Epstein-Barr virus (EBV) in HIV-infected patients and its relation with primary brain lymphoma. *International journal of infectious diseases*, *11*(2), 172-178.
16. Schmutzhard, J., Riedel, H. M., Wirgart, B. Z., & Grillner, L. (2004). Detection of herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2 and varicella-zoster virus in skin lesions. Comparison of real-time PCR, nested PCR and virus isolation. *Journal of clinical virology*, *29*(2), 120-126.
17. Bustin, S. A., & Mueller, R. (2005). Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clinical Science*, *109*(4), 365-379.
18. Cardoso, M., André, S., Leal, L., Araújo, J., & Santos, M. (2010). Mononucleose infecciosa: estudo retrospectivo. *Revista Portuguesa de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial*, *48*(4), 195-200.
19. Yuri Nakaoka Elias da Silava, v. a. n. e. s. s. a., gutierrez, m. m., onofri pereira, a. m. a. n. d. a., kashiwabara, b., & geralda, t. (2013). mononucleose infecciosa-uma revisão de literatura-. *uningá Review*, *16*(1).
20. de Oliveira, J. L., Freitas, R. T., Arcuri, L. J., Gomes, A. P., Vitorino, R. R., Rodrigues, D. C., ... & Siqueira-Batista, R. (2012). O vírus Epstein-Barr e a mononucleose infecciosa. *Rev Bras Clin Med. São Paulo*, *10*(6), 535-43.
21. Lopes, A. C. (2009). Tratado de clínica médica. In *Tratado de clínica médica*. Roca.
22. Linhares JO, et al. O vírus Epstein Barr e a Mononucleose infecciosa . *Revista Brasileira de Clínica Médica*. São Paulo. 2012: *10*(6): 535-543
23. Santos, M. P. D. M., Morais, M. P. L. D. A., Fonseca, D. D. D., Faria, A. B. S. D., Silva, I. H. M., Carvalho, A. A., & Leão, J. C. (2012). Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. *Odontologia Clínico-Científica (Online)*, *11*(3), 191-196.
24. Penello, A. M., Campos, B. C., Simão, M. S., Gonçalves, M. A., Souza, P. M., Salles, R. S., & Pellegrini, E. (2010). Herpes genital. *J Bras Doenças Sex Transm*, *22*(2), 64-72.
25. Lopes, A. D. O. (2016). *Prevalência das infecções causadas por herpesvírus humanos em portadores do HIV através de diagnóstico diferencial* (Doctoral dissertation).
26. Flamand, L., Komaroff, A. L., Arbuckle, J. H., Medveczky, P. G., & Ablashi, D. V. (2010). Review, part 1: Human herpesvirus-6-basic biology, diagnostic testing, and antiviral efficacy. *Journal of medical virology*, *82*(9), 1560-1568.
27. Jerome, K. R., & Morrow, R. A. (2015). Herpes simplex viruses and herpes B virus. In *Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition* (pp. 1687-1703). American Society of Microbiology.