

## MENINGITE ASSÉPTICA POR VÍRUS DA CAXUMBA. ISOLAMENTO DO AGENTE A PARTIR DO LÍQUOR E ESTUDO SOROLÓGICO

Cid Vieira Franco de GODOY<sup>(1,2)</sup>, Octávio Augusto de Carvalho PEREIRA<sup>(2)</sup>,  
Celeste FAVA Netto<sup>(3)</sup>, Renato Piza de Souza CARVALHO<sup>(4)</sup>  
e Antônio Carlos BUENO<sup>(1)</sup>

### RESUMO

Os Autores apresentam estudo sorológico de um caso clínico de meningite asséptica pós-parotidite. Foi conseguido o isolamento do vírus da caxumba a partir do líquido céfalo-raquidiano, em material colhido no 9.º dia da doença (2.º após o aparecimento de sinais meníngeos).

O estudo sorológico por provas de inibição da hemaglutinação e fixação do complemento, comprovaram a participação do referido agente na fase neurológica da infecção.

São discutidas as condições de isolamento do vírus da caxumba e os resultados da sorologia em função dos dados clínicos.

### INTRODUÇÃO

As primeiras descrições de quadros clínicos, hoje sabidamente produzidas por vírus da caxumba, datam de 400 A.C., quando Hipócrates assinalou o quadro clínico de parotidite e sua mais freqüente "complicação", o comprometimento testicular.

Infecções de outros órgãos e tecidos foram posteriormente atribuídos ao mesmo agente, tais como as do sistema nervoso central, pâncreas e miocárdio, além de outras menos freqüentes. HENLE & ENDERS<sup>7</sup>, FERREIRA<sup>5</sup> e GODOY<sup>6</sup>, apresentaram revisões de literatura sobre o assunto.

O presente trabalho tem por finalidade o estudo clínico-laboratorial de um caso de

meningite pós-parotidite, causado pelo vírus da caxumba, no qual foi conseguido o isolamento do agente a partir do líquido céfalo-raquidiano e feita a comprovação sorológica de sua participação.

### SÍNTESE DO QUADRO CLÍNICO

Paciente W.D., RG. 134.016 (H.I.E.R.), 11 anos, masculino, branco, natural de São Paulo, Capital, apresentando queixa de febre e inchaço na região pré-auricular e submaxilar bilateralmente há nove dias, cefaléia e vômitos com regressão do inchaço na região parotídea há dois dias, tonturas há um dia.

Trabalho realizado no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" (Diretor: Prof. Carlos de Oliveira Bastos), Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Diretor: Prof. Carlos da Silva Lacaz) e Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil (Prof. Carlos da Silva Lacaz)

- (1) Médico do corpo clínico do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas"
- (2) Assistente do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da U.S.P. e Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil
- (3) Professor Associado do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da U.S.P., São Paulo, Brasil
- (4) Docente livre de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da U.S.P., São Paulo, Brasil

Ao exame físico apresentava de interesse, estado geral regular, ligeiramente desidratado, temperatura 37,4°C, sinais meningeos presentes, perda do equilíbrio, com ataxia estática caindo para o lado direito. Sinal de Romberg fortemente positivo, com queda para o lado direito e para trás. Provas cerebelares negativas. À punção lombar líquido discretamente turvo com exames seguintes:

**Citológico** — 115 células por mm<sup>3</sup>. Hemácias 10/mm<sup>3</sup>. Contagem específica 100% de mononucleares.

**Químico** — Aspecto levemente turvo, após centrifugação, límpido e incolor. Dosagens: proteínas 48 mg%, cloretos 700 mg% e glicose 44 mg%. Reação de Pandy: opalescente.

**Bacteriológico** — Bacterioscópico: não foram encontradas bactérias. Cultura do líquido: negativa. Cultura para *Mycobacterium tuberculosis*: negativa.

Com a hipótese diagnóstica de meningite e labirintite pós-parotidite, foi submetido à terapêutica de manutenção (hidratação parenteral) e glicocorticóides, apresentando boa evolução com alta sem seqüelas e líquido com características químicas e citológicas normais após 11 dias de internação. Examinado novamente 30 dias após a alta, não apresentava seqüelas.

#### MATERIAL E MÉTODOS

1) **Líquido céfalo-raquidiano** — O líquido foi colhido por punção lombar dois dias após o aparecimento de sinais meníngeos, em condições de esterilidade, sendo conservado a 4°C até o momento do uso.

2) **Sêro do paciente** — Foram colhidas duas amostras de sangue no 9.º e 20.º dia da doença, respectivamente. Os soros foram separados estérilmente e conservados a -20°C até o momento do uso.

3) **Amostra padrão** — Empregamos a amostra Enders (ENDERS & col.<sup>3</sup>), do vírus de caxumba conservado em nosso labo-

ratório por passagens em cavidade alantóide de ôvo embrionado.

4) **Sêro padrão** — Sêro hiperimune de coelho por nós preparado contra a amostra Enders.

5) **Ovos embrionados** — Foram utilizados ovos de 10 dias de incubação a 38°C. Após a inoculação, os ovos foram mantidos a 36°C.

6) **Isolamento** — Foram inoculados com 0,1 ml de L.C.R. 6 ovos de 10 dias de incubação, por via amniótica. Após 5 dias de incubação a 36°C, os ovos foram colocados a 4°C por 18 horas. Os líquidos amnióticos foram colhidos separadamente, sendo neles pesquisados o poder hemaglutinante. O material que mostrou título mais elevado, adicionado de antibióticos (100 µg de estreptomina, 100 U. de penicilina cristalina e 5 µg de mycostatin por ml), foi passado mais uma vez por cavidade amniótica nas mesmas condições da primeira passagem. A terceira passagem foi feita em cavidade alantóide, empregando-se as diluições 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup> do líquido amniótico da segunda passagem que revelou o maior poder hemaglutinante. O líquido alantóide obtido por inoculação da diluição 10<sup>-3</sup>, revelou o maior título e foi empregado na reação de inibição da hemaglutinação para identificação do agente.

7) **Reação de inibição da hemaglutinação** — Tanto para identificação do vírus isolado, como para o estudo sorológico do paciente, empregamos uma microtécnica obtida por modificação de técnica de CLARKE & CASSALS<sup>2</sup>. As provas foram feitas em placas especiais (MONTEIRO & PEREIRA<sup>8</sup>), empregando-se hemácias de galinha, soros tratados previamente por caolim e incubação por duas horas a 4°C (GODOY<sup>6</sup>).

8) **Reação de fixação do complemento** — Realizada pela técnica de WADSWORTH<sup>9</sup>, com complemento titulado em unidades 50% de hemólise segundo FAVA NETTO<sup>4</sup>. Foram empregados os antígenos V e S obtidos com a amostra Enders do vírus da caxumba, segundo GODOY<sup>6</sup>.

## RESULTADOS

A) *Isolamento* — Após a primeira passagem, 2 dos 6 líquidos amnióticos revelaram poder hemaglutinante com títulos 1/2 e 1/8, respectivamente. Após a 2.<sup>a</sup> passagem, o título 1/8 foi obtido em todos os 6 ovos inoculados. A pesquisa de antígeno hemaglutinante após a inoculação em cavidade alantóide, só foi positiva em 2 dos 3 ovos inoculados com a diluição  $10^{-3}$ , sendo o título, 1/16 em ambos.

B) *Identificação* — A identificação do agente isolado foi feita através de prova de inibição da hemaglutinação contra o sêro hiperimune padrão, paralelamente à reação do mesmo sêro contra a amostra Enders. O sêro hiperimune revelou título 1/160, frente a cada um dos antígenos, titulados de modo a conterem 8 unidades.

C) *Pesquisa de anticorpos* — A pesquisa de anticorpos nas amostras de sêro do paciente foram feitas por:

- a) Reações de inibição da hemaglutinação contra a amostra padrão Enders, titulada de forma a conter 8 unidades hemaglutinantes. A primeira amostra de sêro revelou título inferior a 1/10 e a segunda, título 1/80.
- b) Reação de fixação do complemento. A pesquisa e titulação dos anticorpos na 2.<sup>a</sup> amostra de sêro do paciente revelou títulos de 34 e 16 frente aos antígenos V e S, respectivamente. Por insuficiência de sêro, não foi realizada a reação de fixação do complemento na 1.<sup>a</sup> amostra.

## DISCUSSÃO

O presente trabalho estabelece o diagnóstico etiológico em um caso de meningite pós-parotidite causada pelo vírus da caxumba.

O isolamento do agente foi conseguido a partir do líquido céfalo-raquidiano. Não pudemos encontrar referência semelhante na literatura nacional.

A presença do vírus não pôde ser encontrada na totalidade dos ovos inoculados. Na 3.<sup>a</sup> passagem (1.<sup>a</sup> em cavidade alantóide), só revelamos poder hemaglutinante nos ovos inoculados com a diluição  $10^{-3}$  e não naqueles inoculados com as diluições a  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ . Fato semelhante já havia sido descrito por CANTELL<sup>1</sup>, que o explicou como sendo um fenômeno de auto-interferência, que ocorreria em concentrações elevadas de vírus no inóculo.

A primeira amostra de sêro do paciente, não revelou a presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação, embora fôsse colhida 9 dias após o início dos sintomas de parotidite. Por outro lado, o isolamento do agente foi obtido de líquido colhido na mesma data, contrariamente à maioria dos isolamentos descritos na literatura, obtidos até o 5.<sup>o</sup> dia de doença. Achamos provável a correlação entre êstes dois fatos, sobretudo porque a infecção ainda evoluiu para labirintite após o referido dia.

Foi obtido título 1/80 na reação de inibição de hemaglutinação no sêro colhido 11 dias após o primeiro, sendo que neste o título foi de 1/10.

Os achados da reação de fixação do complemento obtidos com a 2.<sup>a</sup> amostra de sêro, falam a favor de infecção recente (GODOY<sup>6</sup>).

Em resumo, achamos provável que a resposta tardia do sistema imunitário do paciente, facilitou a localização neurológica da infecção e permitiu o isolamento do vírus em material colhido no 9.<sup>o</sup> dia da doença.

## SUMMARY

*Asseptic meningitis. Isolation of mumps virus from cerebrospinal fluid and serological study*

Virological and serological laboratory procedures concerning a clinical case of asseptic meningitis following parotitis are presented. Mumps virus was isolated from cerebrospinal fluid collected on the ninth day of disease (second day after the occurrence of meningeal signs). The participation of the agent in the neurological phase of the infection was confirmed by serological tests

of hemagglutination inhibition and complement fixation. Conditions of mumps virus isolation are described and serological results discussed in association with the clinical manifestations.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CANTELL, K. — Investigations on mumps virus: propagation of mumps virus in chick embryos during serial allantoic passages with undiluted inocula. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 37(Suppl. 1):1-84, 1959.
2. CLARKE, D. H. & CASALS, J. — Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Amer. J. Trop. Med.* 7:561-573, 1958.
3. ENDERS, J. F.; KANE, L. W.; COHEN, S. & LIONS, J. H. — Immunity in mumps. I — Experiments with monkeys (*Macacus mulatta*). The development of complement-fixing antibody following infection and experiments on immunization by means of inactivated virus and convalescent human serum. *J. Exp. Med.* 81:93-117, 1945.
4. FAVA NETTO, C. — *Estudos quantitativos sobre a fixação do complemento na blastomicrose sul-americana, com antígeno polissacarídico*. Tese de doutoramento. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1955.
5. FERREIRA, J. M. — Caxumba. In PRA-DO, F. C.; RAMOS, J. R. & VALLE, J. R. — *Atualização Terapêutica*. 6.<sup>a</sup> edição. São Paulo, Livraria Editora Artes Médicas, 1966, págs. 87-88.
6. GODOY, C. V. F. de — *Contribuição para o estudo imunológico das infecções pelo vírus da caxumba*. Tese de doutoramento. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1967.
7. HENLE, W. & ENDERS, J. F. — Mumps virus. In HORSFALL, F. L. & TAMM, I. — *Viral and Rickettsial Infections of Man*. 4th edition. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1965.
8. MONTEIRO, E. V. L. & PEREIRA, O. A. — “Batoques” de polietileno no preparo de placas para hemaglutinação e fixação do complemento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:209-212, 1961.
9. WADSWORTH, A. B. — *Standard Methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1947.

Recebido para publicação em 9/8/1968.