

## **Perfis serológicos atípicos no diagnóstico laboratorial da infeção pelo vírus Epstein-Barr, 2015-2022**

*Atypical patterns in serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection, 2015-2022*

*Sofia Moura, Carla Rio, Laura Almeida, Maria Gabriela Figueiredo, Luísa Cavaleiro, Anabela Santos Silva*

*sofia.moura@insa.min-saude.pt*

*Departamento de Doenças Infecciosas. Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal*

### **Resumo**

Os testes laboratoriais de pesquisa de anticorpos específicos para o vírus Epstein-Barr são uma das ferramentas usadas para a rápida e correta identificação da infeção causada por este vírus. No entanto, existem perfis serológicos atípicos que dificultam a obtenção de um diagnóstico. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a frequência dos perfis serológicos atípicos e caracterizar a sua distribuição em indivíduos cuja pesquisa de anticorpos foi realizada no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Foi realizada uma análise retrospectiva de 1346 indivíduos residentes em Portugal, com perfil serológico completo para o diagnóstico laboratorial da infeção pelo vírus Epstein-Barr, obtido entre 2015 e 2022. Dos indivíduos incluídos no estudo, 192 (14,2%) apresentaram um perfil serológico atípico. O perfil serológico atípico mais frequente foi a presença de anticorpos IgG VCA/EA isolados (8,3%; 112/1346), seguido da presença simultânea de anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1 (3,6%; 48/1346), depois o perfil de anticorpos IgG EBNA-1 isolados (1,6%; 22/1346) e, por último, o perfil de anticorpos IgM VCA isolados (0,7%; 10/1346). No geral, a frequência dos perfis serológicos atípicos obtida neste estudo está de acordo com a literatura. Em comparação com outro estudo realizado em Portugal, os perfis de anticorpos IgG EBNA-1 isolados e anticorpos IgM VCA isolados apresentaram uma frequência ligeiramente superior. O presente estudo demonstra a importância dos perfis atípicos no diagnóstico serológico da infeção pelo vírus Epstein-Barr e a necessidade de efetuar testes serológicos e moleculares adicionais, que variam de acordo com a especificidade de cada perfil atípico.

### **Abstract**

*Specific antibody tests are used to determine different stages of Epstein-Barr virus infection. However, the detection of atypical serological patterns may pose a diagnostic challenge. This study aims to determine the frequency and distribution of atypical patterns in individuals tested at the Portuguese National Institute of Health. We reviewed 1346 individuals with serological patterns obtained between 2015 and 2022, from individuals living in Portugal. Of those included in this study, 192 (14.2%) showed an atypical pattern. Isolated VCA IgG was the most frequent (8.3%, 112/1346), followed by the simultaneous presence of antibodies VCA IgM, VCA/EA IgG, and EBNA-1 IgG (3.6%, 48/1346), isolated EBNA-1 IgG (1.6%, 22/1346),*

*and finally isolated VCA IgM (0.7%, 10/1346). The frequency of atypical serological patterns obtained in this study was similar to those obtained in other studies. When comparing to another study conducted in Portugal, we found slightly higher percentages of the atypical serological patterns: isolated EBNA-1 IgG, and isolated VCA IgM. This study highlights the importance of atypical serological patterns in Epstein-Barr virus diagnosis, and the need to perform additional serologic and molecular tests to better interpret them.*

### **Introdução**

O vírus Epstein-Barr (EBV), também designado por herpesvírus humano 4, é responsável por afetar mais de 90% da população humana a nível mundial (1). Após a infeção primária, o vírus persiste no corpo humano de forma latente podendo mais tarde dar origem a doenças oncológicas (2), nomeadamente linfoma de Hodgkin, linfoma de Burkitt, carcinoma da nasofaringe, carcinoma gástrico, entre outros (1). A nível mundial estimou-se que, em 2017, a proporção atribuída à infeção pelo vírus EBV nas 4 doenças mencionadas anteriormente, tenha sido de 18% dos casos incidentes, 17% das mortes e 4,6 milhões de anos de vida perdidos por incapacidade (DALYs) (3).

O diagnóstico laboratorial de pesquisa de anticorpos específicos para o EBV é uma das ferramentas que pode auxiliar na rápida confirmação da infeção primária por este agente etiológico, bem como é também essencial para determinar um contacto prévio e posterior desenvolvimento da resposta imunológica à infeção viral (4,5). O perfil serológico em resposta à infeção por EBV pode ser avaliado através da pesquisa dos



seguintes anticorpos: imunoglobulina M (IgM) para antígenos da cápside viral (VCA), imunoglobulina G (IgG) para VCA e IgG para antígenos nucleares do vírus Epstein-Barr (EBNA-1). Adicionalmente, também se pode efetuar a pesquisa de anticorpos IgG para os antígenos precoces (EA). O resultado da pesquisa dos diferentes tipos de anticorpos permite diferenciar uma infeção primária de uma infeção passada, no entanto existem perfis serológicos, designados por atípicos, que carecem de testes serológicos adicionais (por exemplo, determinação da avidéz dos anticorpos IgG VCA) e testes moleculares (pesquisa do material genético do EBV), de forma a melhor esclarecer o diagnóstico laboratorial. Estes perfis atípicos caracterizam-se pela presença de anticorpos IgM VCA isolados; presença de anticorpos IgG VCA isolados; presença de anticorpos IgG EBNA-1 isolados; e a presença simultânea de anticorpos IgM VCA, IgG VCA e IgG EBNA-1 (6), conforme descrito na [tabela 1](#).

De forma a adequar a resposta laboratorial torna-se importante conhecer e caracterizar os diferentes perfis atípicos e, por sua vez, refletir sobre os testes adi-

cionais que podem ser utilizados para o efetivo esclarecimento do diagnóstico laboratorial da infeção por EBV. Esta reflexão foi realizada pelos autores, na seção da discussão, onde se descrevem os testes adicionais que podem ser utilizados em cada um dos perfis serológicos atípicos da infeção por EBV.

### \_Objetivo

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de determinar a frequência dos diferentes perfis serológicos atípicos, em indivíduos cuja pesquisa de anticorpos específicos para o vírus Epstein-Barr foi realizada no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, no período de 2015 a 2022.

### \_Material e métodos

Realizou-se uma análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de serologia para o EBV em indivíduos estudados no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2015 e 2022. Neste estudo, foram incluídos indivíduos residentes em Portugal com um perfil serológico completo para o diagnós-

**Tabela 1:** Interpretação dos perfis serológicos no diagnóstico laboratorial da infeção pelo vírus Epstein-Barr.

| IgM VCA | IgG VCA | IgG EBNA-1 | Interpretação  |
|---------|---------|------------|--|
| -       | -       | -          | Seronegativo   |
| +       | -       | -          | Perfil atípico: anticorpos IgM VCA isolados <sup>1</sup>             |
| +       | +       | -          | Infeção primária   |
| -       | +       | +          | Infeção passada  |
| -       | +       | -          | Perfil atípico: anticorpos IgG VCA isolados <sup>2</sup>             |
| -       | -       | +          | Perfil atípico: anticorpos IgG EBNA-1 isolados <sup>3</sup>          |
| +       | +       | +          | Perfil atípico: presença simultânea dos três anticorpos <sup>4</sup> |

+ positivo; - negativo.

Necessário realizar testes adicionais para esclarecer se se trata: <sup>1</sup> de uma infeção primária ou de uma reação cruzada; <sup>2</sup> de uma infeção primária ou de uma infeção passada sem desenvolvimento de anticorpos IgG EBNA-1; <sup>3</sup> de uma infeção passada ou de uma reação inespecífica; <sup>4</sup> de uma infeção primária ou de uma reativação.



tico laboratorial da infeção por EBV, ou seja, resultado para a pesquisa dos anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1 (n=1402). Posteriormente, excluíram-se da análise indivíduos com resultado inconclusivo na pesquisa dos anticorpos para o EBV (n=47) e indivíduos com idade inferior a 1 ano (n=9), devido à possível presença de anticorpos maternos. Desta forma, o tamanho amostral elegível para o estudo dos perfis serológicos atípicos da infeção por EBV foi de 1346 indivíduos.

A pesquisa de anticorpos específicos para o EBV foi efetuada em amostras de soro através da técnica *enzyme-linked fluorescent assay* (ELFA), usando o equipamento mini VIDAS<sup>®</sup> (bioMérieux, France). Este equipamento permite a deteção qualitativa de um painel de quatro anticorpos para o EBV através de três testes automatizados: IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1.

Para a análise descritiva dos dados demográficos (sexo e grupo etário) dos indivíduos que apresentaram um perfil serológico atípico recorreu-se ao cálculo das frequências absolutas e relativas. Os dados foram analisados com o programa STATA<sup>®</sup> 15.1 (StataCorp LLC, Texas, USA).

## Resultados

Dos 1346 indivíduos incluídos no estudo, 995 (74,0%) apresentaram um perfil de infeção passada, 92 (6,8%) apresentaram ausência de anticorpos para o EBV, 67 (5,0%) apresentaram um perfil de infeção primária (anticorpos IgM positivos, anticorpos IgG VCA/EA positivos e anticorpos IgG EBNA-1 negativos) e 192 (14,2%) apresentaram um perfil serológico atípico.

Relativamente aos perfis serológicos atípicos, 10 indivíduos (0,7%; 10/1346) apresentaram anticorpos IgM VCA isolados, 112 (8,3%; 112/1346) apresentaram um perfil de anticorpos IgG VCA/EA isolados, 22 (1,6%; 22/1346) apresentaram anticorpos IgG EBNA-1 isolados e 48 (3,6%; 48/1346) apresentaram simultaneamente anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1.

### Anticorpos IgM VCA isolados

Os 10 indivíduos com o perfil de anticorpos IgM VCA isolados apresentaram uma idade média de 19,9 anos ( $\pm 11,2$ ) e uma mediana de 17,5 anos, com um intervalo de idades entre 8 e 49 anos. Destes, 6 eram do sexo masculino. A distribuição dos indivíduos com perfil serológico atípico por sexo e grupo etário encontra-se na [tabela 2](#).

### Anticorpos IgG VCA/EA isolados

Os 112 indivíduos com o perfil de anticorpos IgG VCA/EA isolados apresentaram uma idade média de 49,1 anos ( $\pm 23,0$ ) e uma mediana de 53 anos, com um intervalo de idades entre 1 e 88 anos. Este perfil atípico foi mais frequente em indivíduos com idade igual ou superior a 30 anos (79,5%; 89/112) e do sexo feminino (53,6%; 60/112) ([tabela 2](#)).

### Anticorpos IgG EBNA-1 isolados

Os 22 indivíduos com o perfil de anticorpos IgG EBNA-1 isolados apresentaram uma idade média de 42,0 anos ( $\pm 22,7$ ) e uma mediana de 39,5 anos, com um intervalo de idades entre 5 e 93 anos. Este perfil atípico foi mais frequente em indivíduos com idade igual ou superior a 25 anos (77,3%; 17/22) ([tabela 2](#)).

### Presença simultânea de anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1

Os 48 indivíduos com presença simultânea de anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1 apresentaram uma idade média de 32,3 anos ( $\pm 21,6$ ) e uma mediana de 24 anos, com um intervalo de idades entre 1 e 85 anos. Este perfil atípico foi mais frequente em indivíduos do sexo feminino (58,3%; 28/48) ([tabela 2](#)).



**Tabela 2:** ▾ Distribuição dos indivíduos com perfil serológico atípico para o vírus Epstein-Barr, por sexo e grupo etário.

| Características        | IgM VCA isolados (n=10) |      | IgG VCA/EA isolados (n=112) |      | IgG EBNA-1 isolados (n=22) |      | IgM VCA, IgG VCA/EA, IgG EBNA-1 (n=48) |      | TOTAL (n=192) |      |
|------------------------|-------------------------|------|-----------------------------|------|----------------------------|------|--|------|---------------|------|
|                        | n                       | %    | n                           | %    | n                          | %    | n                                      | %    | n             | %    |
| Sexo                   |                         |      |                             |      |                            |      |  |      |               |      |
| Feminino               | 4                       | 40,0 | 60                          | 53,6 | 11                         | 50,0 | 28                                     | 58,3 | 103           | 53,6 |
| Masculino              | 6                       | 60,0 | 52                          | 46,4 | 11                         | 50,0 | 20                                     | 41,7 | 89            | 46,4 |
| Grupo etário (em anos) |                         |      |                             |      |                            |      |  |      |               |      |
| 1 - 4                  | 0                       | 0,0  | 3                           | 2,6  | 0                          | 0,0  | 2                                      | 4,2  | 5             | 2,6  |
| 5 - 9                  | 1                       | 10,0 | 6                           | 5,4  | 1                          | 4,5  | 2                                      | 4,2  | 10            | 5,2  |
| 10 - 14                | 1                       | 10,0 | 3                           | 2,6  | 0                          | 0,0  | 6                                      | 12,5 | 10            | 5,2  |
| 15 - 19                | 5                       | 50,0 | 5                           | 4,5  | 2                          | 9,1  | 7                                      | 14,6 | 19            | 9,9  |
| 20 - 24                | 1                       | 10,0 | 4                           | 3,6  | 2                          | 9,1  | 7                                      | 14,6 | 14            | 7,3  |
| 25 - 29                | 1                       | 10,0 | 2                           | 1,8  | 4                          | 18,2 | 4                                      | 8,3  | 11            | 5,7  |
| 30 - 44                | 0                       | 0,0  | 17                          | 15,2 | 6                          | 27,3 | 7                                      | 14,6 | 30            | 15,6 |
| 45 - 64                | 1                       | 10,0 | 40                          | 35,7 | 2                          | 9,1  | 7                                      | 14,6 | 50            | 26,0 |
| ≥ 65                   | 0                       | 0,0  | 32                          | 28,6 | 5                          | 22,7 | 6                                      | 12,5 | 43            | 22,4 |

## Discussão

Os testes laboratoriais de pesquisa de anticorpos específicos para o EBV são uma das ferramentas para o diagnóstico de uma infeção primária e são utilizados, também, para detetar uma resposta imunológica após contacto com o vírus. Não obstante, existem perfis serológicos desenvolvidos após a infeção por EBV que não permitem chegar a uma conclusão definitiva sobre o diagnóstico e estes designam-se por perfis atípicos (6). No presente estudo, foi encontrada uma frequência de 14,2% (192/1346) de perfis serológicos classificados como perfis atípicos. Do conhecimento dos autores apenas existe um estudo anterior dos perfis serológicos atípicos para o EBV efetuado em Portugal, realizado por Moreno (7), e que teve como população alvo os indivíduos analisados no Centro Hospitalar Cova da Beira, no período de 2015 a 2017. Os resultados encon-

trados por Moreno são semelhantes aos do presente estudo, com um total de indivíduos com perfis atípicos de 13,2%. Os valores encontrados nestes dois estudos, realizados em Portugal estão de acordo com os valores de outras populações, nomeadamente estudos realizados na Turquia e Itália, que diagnosticaram um total de indivíduos com perfis atípicos para o EBV entre 11,4% e 15,0% (8-10).

Relativamente ao perfil atípico de anticorpos IgM VCA isolados, este estudo detetou 10 indivíduos com este perfil, que corresponde a uma frequência de 0,7%. Este valor é ligeiramente superior ao obtido num estudo realizado em Portugal (0,3%) (7) e inferior ao de um estudo realizado em Itália (1,2%) (10). No presente estudo, este tipo de perfil atípico foi encontrado em 5 indivíduos com idade pediátrica (≤17 anos), em 4 jovens adultos entre os 18 e 25 anos e num indivi-



duo com 49 anos. A presença deste perfil atípico nos grupos etários mais jovens é concordante com a idade em que ocorre a infeção primária por EBV (2) e por isso pode significar a deteção precoce da infeção, não tendo ainda ocorrido o desenvolvimento de anticorpos IgG VCA/EA. Por outro lado, a pesquisa de anticorpos IgM VCA pode ser positiva devido à presença de fator reumatoide ou auto-anticorpos, ou a uma reação cruzada com anticorpos de outro agente etiológico, por exemplo parvovírus B19 e citomegalovírus (6). De forma a esclarecer o perfil atípico de anticorpos IgM VCA isolados pode-se: pesquisar a presença de fatores que levam a um resultado falso positivo; confirmar a presença de anticorpos IgM para o EBV por *immunoblotting*; ou pesquisar o material genético (ADN) do EBV (6).

A frequência do perfil de anticorpos IgG VCA/EA isolados obtida neste estudo (8,3%; 112/1346) é igual à frequência obtida noutro estudo realizado em Portugal (7). Estudos realizados noutros países detetaram este perfil entre 5,1% e 7,9% dos indivíduos estudados (8-10). Este perfil atípico pode indicar uma infeção primária em que os anticorpos IgM VCA não são produzidos, aparecem tardiamente ou desapareceram precocemente. Por outro lado, este perfil pode também sugerir uma infeção passada em que não houve produção de anticorpos IgG EBNA-1, sendo que cerca de 5% dos indivíduos infetados não desenvolve este tipo de anticorpos, ou estes são produzidos mas desapareceram com o tempo, especialmente no caso de indivíduos imunocomprometidos (6). De forma a esclarecer este perfil de anticorpos é possível efetuar testes adicionais, como por exemplo a determinação da avididade dos anticorpos IgG VCA, *immunoblotting* para anticorpos IgG ou pesquisa do material genético do EBV (6,11). No caso dos indivíduos imunocomprometidos o uso dos testes serológicos é limitado devido à disfunção na produção de anticorpos, pelo que a pesquisa de material genético do EBV torna-se mais relevante em caso de suspeita de infeção por EBV (11).

No caso do perfil de anticorpos IgG EBNA-1 isolados obtivemos uma frequência de 1,6% (22/1346), um valor ligeiramente superior ao obtido no estudo realizado noutra população de Portugal (0,5%) (7). Estudos realizados noutros países mostraram uma frequência deste perfil entre 0,8 e 2,7% (8-10). Este perfil é considerado raro devido à implausibilidade de um indivíduo ter anticorpos IgG EBNA-1 sem anticorpos IgG VCA, no entanto esta situação pode dever-se ao tipo de antigénio usado na pesquisa de anticorpos IgG VCA. Um estudo realizado, com recurso a *immunoblotting* para anticorpos IgG, detetou que os indivíduos, com um perfil atípico de anticorpos IgG EBNA-1 isolados, tinham anticorpos IgG EBNA-1 e também anticorpos IgG VCA anti-p23, ou seja, tinham um perfil compatível com infeção passada (12). Deste modo, a variabilidade encontrada na frequência deste perfil atípico pode dever-se, não só ao facto de ser um evento raro, mas também à diversidade dos alvos utilizados na pesquisa de anticorpos. A dúvida que se levanta com este perfil atípico é se o indivíduo tem uma infeção passada ou se a presença de anticorpos IgG EBNA-1 resulta de uma reação inespecífica e, por isso, continua suscetível à infeção por EBV. Em qualquer das situações, suspeita de infeção passada ou reação inespecífica, a realização do *immunoblotting* para anticorpos IgG permite esclarecer este perfil atípico de anticorpos IgG EBNA-1 isolados (6).

Por último, o perfil atípico com a presença simultânea dos anticorpos IgM VCA, IgG VCA/EA e IgG EBNA-1 foi obtido em 3,6% (48/1346) dos indivíduos incluídos neste estudo. Este valor é ligeiramente inferior à frequência obtida noutro estudo realizado em Portugal (4,2%) (7). Estudos realizados noutros países encontraram valores entre 1,6 e 5,2% (8-10). Este perfil atípico pode indicar uma infeção primária, em que os anticorpos IgM VCA persistem por vários meses após a infeção aguda, ou uma reativação do vírus, sendo esta situação considerada relevante em indivíduos imunocomprometidos. No presente estudo, 16 (33,3%) indivíduos com



este perfil atípico tinham idade pediátrica ( $\leq 17$  anos), o que, na ausência de informação clínica, aponta para uma infeção primária. De forma a melhor esclarecer este perfil atípico, é necessário aplicar os testes mencionados no perfil atípico de anticorpos IgM VCA isolados, com o objetivo de descartar a presença de um resultado falso positivo ou de se confirmar a presença dos anticorpos IgM (6). Adicionalmente, deve-se determinar a avididade dos anticorpos IgG VCA (11). No caso de existir uma avididade baixa a infeção é considerada recente e no caso de existir uma avididade alta pode ser considerada uma infeção passada ou reativação (13,14), que em indivíduos imunocompetentes poderá não ter relevância clínica (6).

## Conclusão

O presente estudo determinou a frequência dos perfis serológicos atípicos para o vírus Epstein-Barr (EBV) em indivíduos testados no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge ao longo de oito anos, 2015-2022.

A frequência dos diferentes perfis atípicos obtida neste estudo, estando de acordo com o descrito na literatura, aponta para a necessidade da realização de testes adicionais.

Através da aplicação de algoritmos de diagnóstico serológico e molecular é possível determinar o estadiamento da infeção por EBV e, desta forma, melhor esclarecer o perfil serológico atípico encontrado.

Em conclusão, os resultados deste estudo são mais um contributo para um maior conhecimento da frequência e distribuição dos perfis serológicos atípicos para o EBV em Portugal.

## Agradecimento

Os autores agradecem à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

## Referências bibliográficas:

- (1) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A review of human carcinogens. Part B: Biological agents. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2012. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; v. 100B). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304348/>
- (2) Epstein MA, Rickinson AB. Infectious Mononucleosis (2010 feb 15). In: Encyclopedia of Life Sciences. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002318.pub2>
- (3) Khan G, Fitzmaurice C, Naghavi M, et al. Global and regional incidence, mortality and disability-adjusted life-years for Epstein-Barr virus-attributable malignancies, 1990-2017. *BMJ Open*. 2020 Aug 30;10(8):e037505. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037505>
- (4) Naughton P, Healy M, Enright F, Lucey B. Infectious Mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation. *Br J Biomed Sci*. 2021 Jul;78(3):107-16. Epub 2021 Apr 14. <https://doi.org/10.1080/09674845.2021.1903683>
- (5) Klutts JS, Ford BA, Perez NR, et al. Evidence-based approach for interpretation of Epstein-Barr virus serological patterns. *J Clin Microbiol*. 2009 Oct;47(10):3204-10. Epub 2009 Aug 5. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2756947/>
- (6) De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol*. 2012 Feb 12;1(1):31-43. <https://doi.org/10.5501/wjv.v1.i1.31>
- (7) Moreno AC. Caracterização do perfil serológico do vírus Epstein-Barr nos doentes do CHCB. (Dissertação de mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade da Beira Interior, 2018) <http://hdl.handle.net/10400.6/8744>
- (8) Varıcı Balcı FK, Özbek ÖA, Sayiner AA. [Atypical profile problem in serological diagnosis of EBV]. *Mikrobiyol Bul*. 2017 Oct;51(4):378-86. <https://doi.org/10.5578/mb.58662>
- (9) Soyulu M, Zeytinoğlu A, Altuğlu İ. Evaluation of enzyme-linked fluorescent assay results for determining Epstein-Barr virus serology at Ege University Hospital. *F Ege J Med*. 2014;53(3): 119-23. <https://doi.org/10.19161/etd.344069>
- (10) De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, et al. Seroepidemiology of EBV and interpretation of the "isolated VCA IgG" pattern. *J Med Virol*. 2009 Feb;81(2):325-31. <https://doi.org/10.1002/jmv.21373>
- (11) Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol*. 2004 Aug;42(8):3381-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3381-3387.2004>
- (12) De Paschale M, Cagnin D, Manco MT, et al. Significance of the "isolated EBNA-1 IgG" pattern in past EBV infection. *Microbiol Med*. 2009;24(1):50-2. <https://doi.org/10.4081/mm.2009.2553>
- (13) de Ory F, Antonaya J, Fernández MV, et al. Application of low-avidity immunoglobulin G studies to diagnosis of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol*. 1993 Jun;31(6):1669-71. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.6.1669-1671.1993>
- (14) Gray JJ. Avidity of EBV VCA-specific IgG antibodies: distinction between recent primary infection, past infection and reactivation. *J Virol Methods*. 1995 Mar; 52(1-2):95-104. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(94\)00147-9](https://doi.org/10.1016/0166-0934(94)00147-9)