

## PESQUISA DE ANTICORPOS FIXADORES DE COMPLEMENTO PARA VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL EM HABITANTES DA CIDADE DE SÃO PAULO

José Alberto N. CANDEIAS (1)  
Luiz HIMELFARB (1)

### RESUMO

A pesquisa de anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial, feita em placas de aglutinação (OMS), revelou, em habitantes da cidade de São Paulo, as seguintes porcentagens de positividade: grupo de estudantes de medicina, 60,9%, grupo de estudantes de enfermagem, 62,8% e grupo de operários de uma fábrica de fiação, 72,6%. Estas porcentagens correspondem às fornecidas por observações feitas em populações de outros países. Não foi encontrada qualquer relação significativa entre os títulos de anticorpos, grupos sanguíneos, idade e atividades profissionais dos operários, único grupo onde foi feita esta investigação. No total de 99 alunos estudados, estudantes de medicina e enfermagem, em que foram feitas duas colheitas de sangue, com 28 dias de intervalo, somente 4 casos apresentaram um aumento de pelo menos quatro vezes, no título de anticorpos, sugerindo uma infecção pelo vírus respiratório sincicial, durante o período de estudo. No grupo de operários, em que só foi feita uma colheita, encontraram-se dois casos de título  $\geq 256$ , que por si só deve igualmente indicar uma infecção recente.

### INTRODUÇÃO

Esta investigação faz parte de um programa de pesquisa sobre a prevalência e distribuição de anticorpos contra vírus respiratórios em grupos populacionais do Brasil. Trabalho anterior<sup>5</sup> permitiu-nos verificar, em determinado grupo, a elevada disseminação do vírus respiratório sincicial, à semelhança do que foi observado por PEREIRA, BRUNO-LOBO & PEREIRA<sup>21</sup> na cidade do Rio de Janeiro e, por numerosos autores, em vários países<sup>3, 11, 14, 20, 8, 10</sup>.

A finalidade do presente trabalho é estender à cidade de São Paulo nossas pesquisas anteriores, através do uso da

reação de fixação de complemento, considerada por PARROT et alii<sup>19</sup> como uma prova de grande utilidade para demonstrar a infecção pelo vírus respiratório sincicial, que, muito embora apresente variações antigênicas, dispõe de um antígeno comum evidenciável por aquela reação<sup>9, 25</sup>.

### MATERIAIS E MÉTODOS

*Pessoas inquiridas* — Foram pesquisados anticorpos contra o vírus respiratório sincicial no soro de 271 indivíduos,

Recebido para publicação em 11-11-1966.

Trabalho da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP.

(1) Instrutores da Cadeira.

distribuídos por três grupos: 64 estudantes da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, 35 estudantes da Escola de Auxiliares de Enfermagem São José, de São Paulo e 172 operários de uma fábrica de fiação de algodão também desta cidade.

A idade dos indivíduos examinados nos grupos de estudantes variava entre 19 e 25 anos; os operários, objeto do presente estudo, apresentavam idades compreendidas entre 14 e 53 anos.

*Soros examinados* — Das 271 amostras de soro estudadas, as correspondentes ao grupo de operários referem-se a uma só colheita feita em 1965, enquanto os soros de estudantes correspondem a duas colheitas feitas com 28 dias de intervalo, em 1966; a totalidade das amostras foi conservada a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do exame. Todas as provas de fixação de complemento foram realizadas em outubro e novembro de 1966.

*Antígeno para a reação* — A preparação do antígeno para a reação de fixação de complemento foi feita a partir da cepa Long de vírus respiratório sincicial cedida pela Dra. M. S. Pereira \*. Culturas de células HeLa e Hep 2 foram usadas indiferentemente para a multiplicação da amostra de vírus padrão, seguindo-se técnica descrita em trabalho anterior<sup>5</sup>; a única modificação introduzida no preparo do antígeno foi sua inativação a  $56^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos, processo que confere ao antígeno maior estabilidade, tendo sido possível conservá-lo a  $4^{\circ}\text{C}$  durante todo o tempo em que se realizaram as dosagens de anticorpos fixadores de complemento.

*Reação de fixação de complemento* — Para a execução desta reação foram usadas as placas de aglutinação (OMS) e seguiu-se a técnica referida por BRAD-

STREET & TAYLOR<sup>2</sup>, com algumas modificações: o volume final da reação era de 0,5 ml, completados pela mistura de 0,1 ml de cada diluição do soro a testar, 0,1 ml da diluição ótima de antígeno, 0,1 ml da diluição do complemento com 2 unidades  $\text{HC}_{100}$  e 0,2 ml de uma suspensão de glóbulos vermelhos sensibilizados a 2%.

## RESULTADOS

A Tabela I apresenta a porcentagem de positividade na reação de fixação de complemento para o vírus respiratório sincicial, em cada um dos grupos estudados, porcentagem esta calculada em função do número de amostras encontradas com título superior a 4. O total de soros estudados, distribuídos pelos grupos referidos, não representa amostra significativa, mas dá-nos uma idéia da ocorrência de infecção por aqueles vírus na população estudada; podem observar-se porcentagens de 60,9%, 62,8% e 72,6%, correspondentes respectivamente ao grupo de estudantes de medicina, estudantes de enfermagem e operários e de 68,6% em relação ao total geral, valor este que se enquadra perfeitamente na série de resultados obtidos por DOGGET<sup>10</sup>, com soros de diversas regiões do mundo. O mesmo ocorre com as médias geométricas dos títulos encontrados em cada grupo, com exceção da referente aos estudantes de medicina.

Na Tabela II estão discriminadas as porcentagens de positividade em relação aos grupos sanguíneos, nos operários de fiação, estudo que nos decidimos fazer em face das observações de McDONALD & ZUCKEMAN<sup>16</sup>. As porcentagens observadas foram de 65,7% e 79,1%, respectivamente, nos indivíduos pertencentes ao grupo A e grupo O. Foram excluídos os pertencentes aos grupos B e AB, o que reduziu o total de indivíduos observados para 150, em relação ao qual a porcentagem de positividade era ainda

\* Do «Virus Reference Laboratory — Central Public Health Laboratories, Colindale» — Londres.

TABELA I

Títulos e freqüência de anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial em estudantes de medicina, estudantes de enfermagem e operários

Grupos estudados	Total geral	Número de amostras com título:								Total Positivos *	Positivos %	Média geométrica
		< 4	4	8	16	32	64	128	$\geq 256$			
Estudantes de medicina .....	64	25	8	1	5	11	10	4	—	39	60,9	25
Estudantes de enfermagem ..	35	13	3	3	8	6	2	—	—	22	62,8	16
Operários .....	172	47	28	36	20	30	9	—	2	125	72,6	13
Total .....	271	85	39	40	33	47	21	4	2	186	68,6	15

\* Consideram-se como positivos os soros de título  $\geq 4$ .

TABELA II

Porcentagem de positividade para anticorpos fixadores de complemento contra vírus respiratório sincicial em operários com grupos sanguíneos A ou O

Grupo sanguíneo	Total	Número de amostras		Porcentagem de positividade *
		Positivas	Negativas	
A .....	64	42	22	65,7
O .....	86	68	18	79,1
Total .....	150	110	40	73,3

\* Consideram-se como positivos os soros de título  $\geq 4$ .

de 73,3%, valor bem próximo do observado na Tabela I para todo o grupo de operários.

Na Tabela III apresentamos os resultados de um estudo feito com o grupo de operários, no sentido de encontrar alguma relação entre as freqüências dos títulos de anticorpos fixadores de complemento e a atividade profissional desempenhada. A idéia básica era verificar se eram mais freqüentes os títulos mais elevados nos indivíduos cuja atividade obrigava a um contato mais inten-

so com poeiras. Para isso formámos dois grupos de atividades, a saber: atividade I, que compreendia os trabalhos nas penteadeiras, massaroqueiras e ringues, em ambientes sempre com grande densidade de poeira; atividade II, em que o contato com poeiras era praticamente nulo e na qual foram incluídos os trabalhos nas retorcadeiras, lesonas, binadeiras, stonnington e meadeiras. O cálculo das médias geométricas dos títulos observados foi para a atividade I igual a 13 e para a atividade II igual a 15.

TABELA III

Títulos de anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial em operários com diferentes atividades profissionais

Atividade profissional	Total	Número de soros com título:								Média geométrica
		< 4	4	8	16	32	64	128	≥ 256	
Atividade I .....	73	22	14	13	11	9	6	—	—	13
Atividade II .....	96	24	14	21	9	21	3	—	2	15
Total .....	169	46	28	34	20	30	9	—	2	11

TABELA IV

Resultados da prova de fixação de complemento realizada no grupo de estudantes, sangrados duas vezes

Títulos dos soros da primeira colheita	Total	Títulos dos soros da segunda colheita							
		< 4	4	8	16	32	64	128	≥ 256
< 4 .....	39	36	2	—	—	1	—	—	—
4 .....	10	3	5	—	—	2	—	—	—
8 .....	4	—	1	1	1	1	—	—	—
16 .....	13	1	2	4	4	2	—	—	—
32 .....	17	1	—	1	3	12	—	—	—
64 .....	12	—	—	—	1	2	9	—	—
128 .....	4	—	—	—	1	—	1	2	—
≥ 256 .....	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Total .....	99	41	10	6	10	20	10	2	—

O estudo comparativo dos resultados da titulação das duas amostras de soro obtidas de 99 estudantes é feito na Tabela IV, em que se distribuem os títulos dos soros da primeira colheita de acordo com os títulos dos soros da colheita feita 28 dias depois daquela. Do total referido, somente em 3 amostras de soro foi possível evidenciar um aumento de título de pelo menos quatro vezes; duas

delas com um título inicial de 4 e a terceira com um título de 8.

Na Tabela V são apresentados os resultados das porcentagens de positividade em função da idade, para o grupo de operários. Nesta tabela não figuram os indivíduos de 23 ou mais anos de idade, dada a sua reduzida frequência, a qual não ultrapassou o total de 13 indivíduos.

TABELA V

Distribuição dos anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial em operários, conforme a idade

Idade	Total	Número de amostras		% de positividade *
		Positivas	Negativas	
14	9	7	2	78
15	18	12	6	61
16	24	20	4	88
17	33	25	8	76
18	26	19	7	73
19	19	12	7	63
20	16	11	5	69
21	5	2	3	40
22	9	9	—	100
Total	159	117	42	73,5

\* Consideram-se como positivos os soros de título  $\geq 4$ .

### DISCUSSÃO

Os primeiros trabalhos sobre o isolamento do vírus respiratório sincicial<sup>7, 17</sup> foram seguidos de numerosas publicações não só sobre os resultados do isolamento deste agente etiológico de determinados quadros clínicos<sup>3, 11, 14, 20, 8, 6</sup> como de reações de neutralização de fixação de complemento<sup>1, 13, 10</sup>, todos eles sugestivos da sua ubiquidade. No presente estudo pudemos comprovar a elevada porcentagem de positividade, da ordem de 68,6%, em grupos de habitantes da cidade de São Paulo. Certamente os grupos estudados têm características especiais que os diferenciam da população em geral, como seja o fato de se tratar de pequenos aglomerados onde o contato entre os indivíduos é mais íntimo, sendo portanto, mais frequentes as possibilidades de infecções cruzadas.

De qualquer modo, os resultados obtidos mostram que, em relação aos anti-

corpos fixadores de complemento, os grupos por nós estudados apresentam porcentagem de positividade semelhante à dos estudados por outros autores em diferentes países.

Por outro lado, o fato de se ter encontrado no grupo de estudantes de medicina uma média geométrica dos títulos mais elevada pode ser uma confirmação do fato já observado de que o vírus respiratório sincicial ocasiona frequentemente, em estudante adultos, quadros respiratórios de discreta gravidade mesmo quando já tiveram contatos anteriores com este vírus<sup>8</sup>.

No grupo de 99 indivíduos sangrados duas vezes, todos estudantes, foi possível evidenciar a ocorrência de 4 casos de infecção recente, ou seja, em 4,04% dos seus componentes. O critério de julgamento desta ocorrência foi o encontro de anticorpos, na segunda amostra do soro, em título, no mínimo quatro vezes superior ao da primeira. Entre os 172 operários, dos quais se colheu uma só amostra de sangue, existem dois casos de título superior a 256, o que por si só pode ser indicativo de uma infecção recente.

A diferente suscetibilidade à varíola de pessoas com grupos sanguíneos A e O foi confirmada por alguns autores<sup>12, 22</sup>, o que levou outros investigadores<sup>18, 16</sup> a tentar estabelecer idêntica relação para outras infecções a vírus, particularmente as ocasionadas pelos vírus da influenza e adenovírus. Com os nossos resultados, depois de ter sido feita uma avaliação através de teste de associação, pudemos verificar que ao nível de 5% a diferença entre as proporções, 65,7% e 79,1%, correspondente aos grupos sanguíneos A ou O não é significativa. Pesquisas da mesma índole feitas por BROWN & TAYLOR-ROBINSON<sup>4</sup> também não mostraram diferença na frequência ou na média geométrica dos títulos em pessoas com grupos sanguíneos A e O.

A tentativa feita no grupo de operários no sentido de relacionar os títulos encontrados com as diferentes ativid-

des profissionais, estudo já desenvolvido por numerosos autores em relação a outras infecções respiratórias ocasionadas por vírus<sup>24, 23</sup>, conduziu a resultados que não permitem estabelecer uma conclusão afirmativa naquele sentido.

Uma análise da distribuição da positividade para anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial em relação aos grupos etários em operários, não mostra resultados semelhantes aos observados anteriormente<sup>5</sup>, de nítida elevação da taxa de positividade com a idade. Para a realização do teste de homogeneidade não foi considerado o grupo etário que compreende os indivíduos de 23 anos e idade superior, pela mesma razão apresentada anteriormente. Os indivíduos estudados em cada grupo etário foram dispostos numa tabela de contingência de  $2 \times 9$  (Tabela V) e foi realizado o teste de homogeneidade, isto é, de independência entre positividade e idade pelo  $\chi^2$ . Embora a tabela esperada apresentasse frequência menor do que 5, trabalho recente<sup>15</sup> concluiu que aquele teste pode ser usado para frequências esperadas maiores do que 1. Obtivemos um  $\chi^2$  observado de 8,958, valor este que comparado com o valor crítico da tabela de  $\chi^2$  a 5%, para 8 graus de liberdade (15,507) nos leva à aceitação de independência entre positividade e idade.

#### CONCLUSÕES

- a) Em grupos de estudantes de medicina, estudantes de enfermagem da cidade de São Paulo, de idade compreendida entre 19 e 23 anos e num grupo de operários de uma fábrica de fiação igualmente localizada na cidade de São Paulo, cuja idade variava entre 14 e 53 anos, evidenciou-se elevada frequência de anticorpos fixadores de complemento contra o vírus respiratório sincicial, sendo a taxa de positividade de 68,6%.

- b) No grupo de estudantes observou-se uma taxa de infecção de 4,04%, durante o período estudado.
- c) Não foi encontrada qualquer relação entre a taxa de positividade, os grupos sanguíneos A e O e as atividades profissionais, entre os operários.
- d) Nos operários as porcentagens de positividade encontradas para os grupos etários formados não indicam aumento da frequência de anticorpos com a idade.

#### SUMMARY

Complement fixation tests carried out in WHO haemagglutination plates, and performed in 271 sera from inhabitants of São Paulo, showed specific antibodies to the respiratory syncytial virus. In a group of students from a Medical School, 60,9% of them had antibodies at a titre  $\geq 4$ ; in a group of students from a Nursing School that percentage was 62,8% and 72,6% in a group of workers from a cotton mill. A study carried out in these workers showed no relation between the frequency of antibodies, blood groups A and O, age group, and occupational activities. It was revealed in 99 sera from students, by, at least, a 4 fold elevation of the antibody titre, 4 cases of respiratory syncytial virus infection. In the group of workers from which we obtained only one sample of serum there were 2 cases with a titre of 256, probably suggesting a recent respiratory syncytial virus.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Flavio Wagner Rodrigues, do Departamento de Estatística Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP, pelas análises estatísticas incluídas neste trabalho e à Srta. Maria Cloniza da Costa Vieira, pela dedicação e eficiência técnica que muito nos auxiliaram na execução do presente estudo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, J. M.; IMAGAWA, D. T. & ZIKE, L. — Epidemic bronchiolitis and pneumonitis related to respiratory syncytial virus. *JAMA*, 176(12):1037-1039, Jun., 1961.

CANDEIAS, J. A. N. & HIMELFARB, L. — Pesquisa de anticorpos fixadores de complemento para vírus respiratório sincicial em habitantes da cidade de São Paulo. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 20:207-213, 1966.

2. BRADSTREET, C. M. P. & TAYLOR, C. E. D. — Technique of complement-fixation test applicable to the diagnosis of virus diseases. *Monthly Bull. Min. Hlth*, 21:96-104, 1962.
3. BRETON, A.; SAMAILLE, J. & GAUDIER, B. — Isolament du virus syncytial (virus C.C.A. de Morris) aux cours de manifestations respiratoires benignes epidemiques chez des premature. *Arch. franc. Pediat.*, 18(4):459-467, Jan., 1961.
4. BROWN, P. K. & TAYLOR-ROBINSON, D. — Respiratory virus antibodies in sera of persons living in isolated communities. *Bull. Wld. Hlth Org.*, 34(6):895-900, 1966.
5. CANDEIAS, J. A. N. & CHRISTOVÃO, D. de A. — Pesquisa de anticorpos fixadores de complemento para vírus respiratório sincicial em grupos da população do território federal do Amapá, Brasil. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 20(1):87-97, Jun., 1966.
6. CANDEIAS, J. A. N. — Isolamento do vírus respiratório sincicial em crianças com quadros respiratórios agudos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* (em vias de publicação).
7. CHANOCK, R. M. — Association of a new type of cytopathogenic myxovirus with infantile croup. *J. exp. Med.*, 104(4):555-575, Oct., 1956.
8. CHANOCK, R. M. et alii — Acute respiratory diseases of viral etiology: respiratory syncytial virus. *Amer. J. publ. Hlth*, 52(6):918-925, Jun., 1962.
9. COATES, H. V. et alii — Antigenic differences between two strains of respiratory syncytial virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 112(4):958-964, Apr., 1963.
10. DOGGET, J. E. — Antibodies to respiratory syncytial virus in human sera from different regions of the world. *Bull. Wld. Hlth Org.*, 32(6):849-853, 1965.
11. FORBES, J. A. et alii — Epidemic bronchiolitis caused by a respiratory syncytial virus: clinical aspects. *Med. J. Aust.*, 2(24):933-935, Dec., 1961.
12. HARRIS, R. et alii — Vaccinia and human blood-group A substance. *Lancet*, 1(7230):622, Mar., 1962.
13. KRAVETZ, H. M. et alii — Respiratory syncytial virus. III. Production of illness and clinical observations in adult volunteers. *JAMA*, 176(8):657-663, May, 1961.
14. LEWIS, F. A. et alii — A syncytial virus associated with epidemic disease of the lower respiratory tract in infants and young children. *Med. J. Aust.*, 2(24):932-933, Dec., 1961.
15. LEWONTIN, R. C. & FELSENSTEIN, J. — The robustness of homogeneity tests in 2xn tables. *Biometrics*, 21(1):19-33, Mar., 1965.
16. McDONALD, J. C. & ZUCKERMAN, A. J. — ABO blood groups and acute respiratory virus disease. *Brit. Med. J.*, 2(5297):89-90, Jul., 1962.
17. MORRIS, J. A. et alii — Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 92(3):544-549, Jul., 1956.
18. MULDER, J. — Asiatic influenza in the Netherlands. *Lancet*, 2(6990):334, Aug., 1957.
19. PARROT, R. H. et alii — Respiratory syncytial virus. II. Serologic studies over a 34-month period of children with bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory diseases. *JAMA*, 176(8):653-657, May, 1961.
20. PEACOCK, D. & CLARKE, S. K. R. — Respiratory syncytial virus in Britain. *Lancet*, 2(7200):466, Aug., 1961.
21. PEREIRA, M. S.; BRUNO-LOBO, G. S. & PEREIRA, H. G. — Inquérito sorológico sobre a incidência de certas viroses respiratórias no Rio de Janeiro. *Ann. Microbiol.*, 9(pt. C):567-589, 1961.
22. PETTENKOFER, H. J. et alii — Alleged causes of the present-day world distribution of the human ABO blood groups. *Nature*, 193(4814):445-446, Feb., 1962.
23. REID, D. D. — Environmental factors in respiratory disease. *Lancet*, 1(7033):1237-1242, Jun., 1958.
24. REID, D. D. et alii — Colds among office workers. An epidemiological study. *Lancet*, 2(6799):1303-1306, Dec., 1953.
25. WULFF, H. K. P. & WENNER, A. — Respiratory syncytial virus: observations on antigenic heterogeneity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 115(1):240-243, Jan., 1964.