

## ANTICORPOS NEUTRALIZANTES PARA ADENOVÍRUS TIPOS 1 A 7 EM HABITANTES DA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL, EM 1982 \*

Maria Akiko ISHIDA \*\*  
Shunji SAKAKIBARA \*\*\*  
Yoko YOKOTA \*\*\*

RIALA6/588

ISHIDA, M.A.; SAKAKIBARA, S. & YOKOTA, Y. — Anticorpos neutralizantes para adenovírus tipos 1 a 7 em habitantes da cidade de São Paulo, Brasil, em 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):179-183, 1984.

**RESUMO:** Foram pesquisados anticorpos neutralizantes para adenovírus tipos 1 a 7, em 180 soros de 180 indivíduos residentes na cidade de São Paulo, de diferentes grupos etários, colhidos em fevereiro de 1982. Os resultados mostraram que 53,3% dos doadores possuíam anticorpos para os tipos 1, 2, 3 e 5; 88,9% a 100% de indivíduos, com mais de 5 anos de idade, tinham anticorpos para adenovírus tipos 1 e 2. Quanto ao tipo 3 e 5, verificou-se elevação gradual, grupo a grupo, com percentagem um pouco menor que a dos tipos 1 e 2; porém, 71,9% a 92,8% dos indivíduos acima de 20 anos, possuíam anticorpos para os tipos 3 e 5. Em relação aos tipos 4 e 6, nas faixas etárias acima de 5 anos, a média foi de 50% e, para o tipo 7, aproximadamente de 20%. Foi verificado que 40% das crianças do grupo etário de 0 a 4 anos, não possuíam anticorpos para os 7 tipos de adenovírus estudados, e que 72,8% dos indivíduos acima de 10 anos possuíam anticorpos para 4-6 tipos diferentes de adenovírus.

**DESCRITORES:** adenovírus, infecção humana; anticorpos para adenovírus, teste de neutralização.

### INTRODUÇÃO

Row *et alii*, em 1953, isolaram pela primeira vez o adenovírus, a partir de cultura de tecidos de adenóides humanas. São conhecidos mais de 35 adenovírus, antigenicamente distintos, de origem humana<sup>9</sup>.

Os adenovírus apresentam vários quadros clínicos<sup>3, 5, 9</sup> e afetam o trato respiratório, as conjuntivas oculares, ou o trato gastrintestinal.

De 1960 a 1980, estudos realizados no Brasil<sup>2</sup>, Estados Unidos<sup>7, 8, 15</sup>, Japão<sup>6, 10, 11, 13</sup> e Taiwan<sup>12</sup> mostraram que as taxas de anticorpos neutralizantes para diferentes tipos de adenovírus variam conforme a idade, população e área geográfica estudada.

O objetivo deste trabalho foi determinar anticorpos neutralizantes para 7 diferentes tipos de adenovírus, assim como estudar o comportamento imunológico de habitantes da cidade de São Paulo, em relação a estes adenovírus.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### *Soros humanos*

Foram utilizados 180 soros de 180 indivíduos residentes na cidade de São Paulo, pertencentes a diferentes faixas etárias, escolhidos aleatoriamente dentre pessoas que procuraram o Instituto Adolfo Lutz para a realização de exames laboratoriais outros,

\* Realizado no Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente, Província de Shiga, Japão. Apresentado no 57.º Congresso da Sociedade Japonesa de Doenças Infecciosas, Osaka, Japão, 1983.

\*\* Da Seção de Vírus Respiratórios do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\*\* Do Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, Japão.

em fevereiro de 1982. As amostras foram colhidas na Seção de Colheita de Material deste Instituto e enviadas ao Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, Japão, para serem estudadas.

TABELA

Distribuição das amostras de soro, segundo grupos etários

N.º de amostras	Grupos etários (anos)
15	0 — 4
11	5 — 9
25	10 — 19
28	20 — 29
26	30 — 39
25	40 — 49
32	50 — 59
18	≥ — 60
180	—

#### Culturas de células

Foram utilizadas culturas de células HeLa, cedidas pelo Dr. Tokuda, do Hospital Central de Kurashiki, Província de Okayama, Japão.

#### Meios de cultura

Foi utilizado o meio Eagle comercial (5900 NS), da Nissui\*, na proporção de 0,94 g para 100 ml de água destilada, ao qual foi adicionado 1 g de glutamina. Como meio de crescimento das células em microplacas e em garrafinhas de 250 ml foi utilizado o meio Eagle ao qual foi adicionado 10% de soro fetal bovino. Como meio de manutenção das células em microplacas, foi utilizado o meio Eagle, suplementado com 1% de soro fetal bovino. No meio de manutenção em garrafinhas foram utilizados 2% de soro de vitelo.

#### Antígenos

Foram utilizados protótipos de adenovírus (ADV) tipos 1 a 7, gentilmente cedido pelo Dr. Takao Yoshii do Instituto Nacional de Saúde de Tóquio, Japão. Os protótipos de ADV usados foram: tipo 1, adenoid 71; tipo 2, adenoid 6; tipo 3, G.B.; tipo 4, R 167; tipo 5, adenoid 75; tipo 6, tonsil 99 e tipo 7, Gomen<sup>9</sup>.

#### Titulação

O antígeno foi produzido em garrafinhas de células HeLa. A titulação do antígeno foi realizada nestas mesmas células, em microplacas com fundo chato. Foram feitas diluições em série a partir de 1:4 até 1:8.192. Foi considerado como 1 U de vírus em 0,050 ml a última diluição que, no 3.º dia demonstrou efeito citopático (+++ ou ++++ plus). O título utilizado na reação foi de 2 unidades de vírus/0,025 ml.

#### Reação de neutralização

A reação de neutralização foi realizada em microplacas de transferência em U e acopladas em microplacas de fundo chato<sup>1</sup>.

As amostras de soro foram diluídas a 1:4 com meio Eagle, sem soro, e inativadas a 56°C, por 30 minutos.

Em cada orifício da placa de transferência foram colocados 0,025 ml de soro diluído a 1:4 e 0,025 ml de antígeno diluído (2U/0,025 ml). A mistura soro-antígeno foi incubada, em estufa de CO<sub>2</sub>, a 25°C por 1 hora. Após este tempo, o conteúdo de cada orifício da placa de transferência foi inoculado, por justaposição e capilaridade, nos respectivos orifícios das microplacas com fundo chato, contendo culturas de células. As microplacas com culturas de células HeLa foram preparadas com 3 dias de antecedência e, no dia da inoculação, o meio foi trocado pelo meio Eagle com 1% de soro fetal bovino.

As microplacas foram incubadas a 37°C em estufa de CO<sub>2</sub>, e as leituras foram realizadas diariamente. Foi feito simultaneamente o controle do soro na diluição de 1:4 e a retitulação paralela do vírus. O título neutralizante do soro foi definido como a diluição soro que inibiu o efeito citopático de 2 unidades de vírus/0,025 ml em 3 dias.

## RESULTADOS

A percentagem de soros positivos no grupo etário de 0 a 4 anos, tanto para adenovírus tipo 1 como para o tipo 2, foi de 33,3% e, nos grupos etários acima de 5 anos, apresentou uma variação de 88,9 a 100%. A percentagem de soros positivos tanto para adenovírus tipo 3 como para o tipo 5, foi de 20% no grupo etário de 0 a 4 anos, e em indivíduos acima de 20 anos, houve uma variação de 71,9 a 92,8%. Quanto aos adenovírus tipos 4, 6 e 7, no grupo etário de 0 a 4 anos, as percentagens foram de 13,3; 6,7 e 6,7 respectivamente. Foi verificada nítida elevação da percentagem de soros positivos em indivíduos do grupo etário de 20 a 29 anos (78,6%) para adenovírus tipo

\* Nissui Seiyaku Co. Ltd, Toshima-ku, Tokyo, Japan.

4 e, em indivíduos no grupo etário de 30 a 39 anos (76,9%), para adenovirus tipo 6. As percentagens de soros positivos para adenovirus tipo 7 variaram entre 6,7 e 36,4% (fig. 1).

No grupo etário de 0 a 4 anos, 40% das crianças demonstraram não possuir anticorpos para qualquer dos tipos de adenovirus

estudados. No grupo etário de 5 a 9 anos todos os indivíduos apresentaram anticorpos para mais de um tipo de ADV e, nos indivíduos acima de 10 anos, observou-se que 72,8% possuíam anticorpos para 4 a 6 tipos diferentes de ADV. Além disso, verificou-se que 3,9% de indivíduos possuíam anticorpos para todos os tipos de ADV (fig. 2).

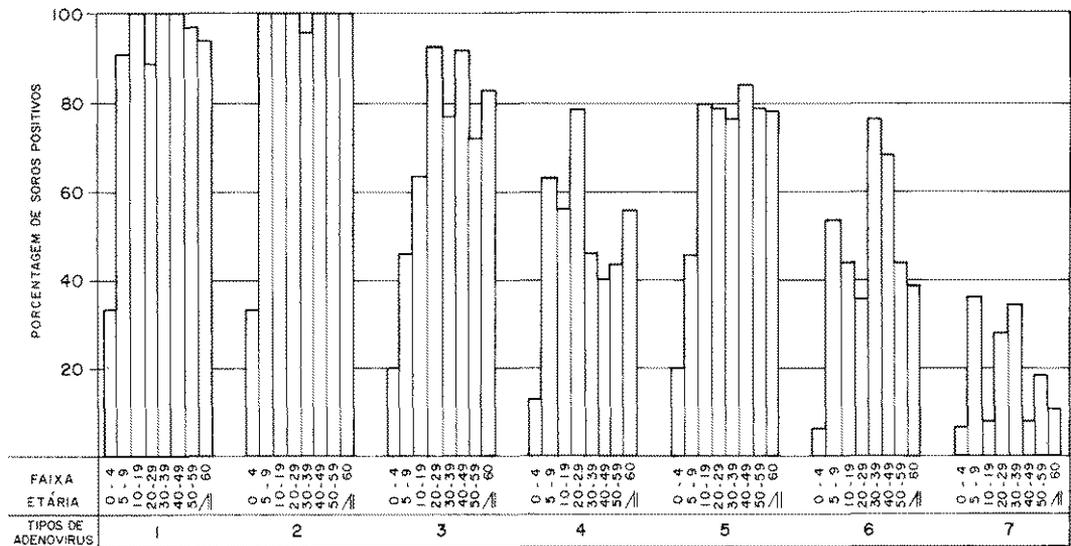


FIGURA 1 — Anticorpos neutralizantes em diferentes faixas etárias para cada tipo de adenovirus, em habitantes de São Paulo (1982).

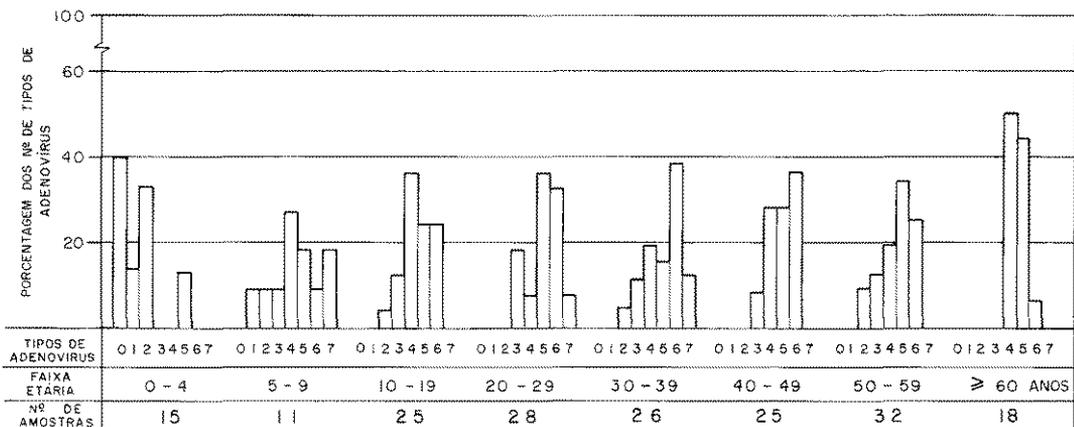


FIGURA 2 — Distribuição do número de tipos de adenovirus em habitantes da cidade de São Paulo (1982).

## DISCUSSÃO

Embora o número de soros utilizados seja pequeno, a partir dos resultados obtidos podemos afirmar que adenovírus tipos 1, 2, 3 e 5 prevalecem na cidade de São Paulo. Esta prevalência também ocorre na maioria das áreas pesquisadas; Japão<sup>6, 11, 13, 14</sup>, Estados Unidos<sup>7, 8, 15</sup> e Taiwan<sup>12</sup>, onde foram encontradas percentagens médias e altas de soros positivos. Porém, as percentagens de soros positivos foram baixas para ADV tipo 1, em Kansas, Estados Unidos; para ADV tipo 3, em Washington, Estados Unidos e em Gifu, Japão e, para ADV, tipo 5, em Cleveland, Estados Unidos.

Em relação aos ADV, tipos 4, 6 e 7, as percentagens por nós verificadas de soros positivos variaram conforme a idade, mas essa variação não foi significativa, pelo teste do  $\chi^2$ .

As percentagens observadas nos ADV tipos 4 e 6 foram menores quando comparadas às dos tipos 1, 2, 3 e 5; supõe-se que os tipos 4 e 6 ocorreram sob a forma de pequenos surtos ou sob forma esporádica, em São Paulo (1982).

Os resultados obtidos em relação ao ADV tipo 4, em São Paulo (1982), Okayama e Taiwan mostraram percentagens médias de soros positivos. No entanto, em Tóquio, Washington, Cleveland, Gifu, Kansas e em São Paulo (1960) as percentagens de soros positivos foram bem baixas.

Tanto para o tipo 6 como para o tipo 7, houve grande variação nas percentagens de soros positivos, conforme a área estudada. Os resultados obtidos com soros de São Paulo (1982) para ADV tipo 6 foram semelhantes aos resultados obtidos em Tóquio, Okayama,

Gifu e São Paulo (1960). Os estudos realizados em Taiwan mostraram percentagens mais elevadas e os realizados em Washington, Cleveland e Kansas mostraram percentagens um pouco menores.

Em relação ao ADV tipo 7, este foi o que apresentou menor percentagem de soros positivos em todos os grupos etários, permitindo concluir que este tipo de ADV é o menos prevalente na população de São Paulo. Estes resultados demonstraram percentagens de soros positivos semelhantes às de Cleveland, Gifu e Shiga, porém menores que os resultados obtidos em Tóquio, Taiwan, Kansas e São Paulo (1960).

Em relação à prevalência dos 7 tipos de ADV nas amostras por nós estudadas, quando comparada aos dados obtidos em estudos anteriores, por CARVALHO<sup>2</sup>, em 1960, verificamos que houve certa semelhança nos resultados. Entretanto, o que despertou atenção especial para nossos dados foi a alta percentagem de soros positivos em indivíduos acima de 5 anos de idade, para adenovírus tipo 4 (48,3%), conforme demonstra a figura 2.

## Agradecimentos

Ao Governo da Província de Shiga, Japão, por ter doado a bolsa de estudos para o estágio de especialização, que nos permitiu a realização deste trabalho; ao Dr. Bun-iti Nakagawa, Diretor do Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, onde foi realizado este trabalho; ao Dr. Tokuda, por ter gentilmente cedido as culturas de células HeLa, e ao Dr. Takao Yoshii, por ter cedido os protótipos de adenovírus.

RIALA6/588

ISHIDA, M.A.; SAKAKIBARA, S. & YOKOTA, Y. — Neutralizing antibodies against types 1 to 7 adenovirus in inhabitants of the city of São Paulo, Brazil, 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):179-183, 1984.

ABSTRACT: Neutralizing antibodies against types 1 to 7 adenovirus were titrated in 180 sera from 180 inhabitants of the city of São Paulo who belonged to various age groups. Blood specimens were collected in February, 1982. Antibodies against types 1, 2, 3, and 5 were found in 53.3% of the donors. Antibodies against types 1 and 2 were found 88.9% to 100% of the donors who were 5 or more years old. Antibodies against types 3 and 5 were detected in 71.9 to 92.8% of donors 20 or more years old. A mean of 50% of donors 5 or more years old showed antibodies against types 4 and 6 while 20% showed antibodies against type 7. It was found that 40% of children 0-4 year old had no antibody to the 7 study types while 72.8% of donors over 10-year old had antibodies against 4 to 6 serotypes.

DESCRIPTORS: adenovirus infection, human; antibodies, adenovirus neutralizing test.

ISHIDA, M.A.; SAKAKIBARA, S. & YOKOTA, Y. — Anticorpos neutralizantes para adenovírus tipos 1 a 7 em habitantes da cidade de São Paulo, Brasil, em 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):179-183, 1984.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASHIHARA, Y.; KAWANA, R.; KIMURA, M. & HIRAYAMA, M. — *Métodos práticos para o diagnóstico de vírus* (Uirusu kensa-ro no dissai). Tokio, Editora Moderna, 1980. p. 200-3.
2. CARVALHO, R.P.S. — *Contribuição para o estudo dos adenovírus*. São Paulo, 1960. 129 p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].
3. FOY, H.M. & GRAYSTON, J.T. — Adenoviruses. In: EVANS, A.S., ed. — *Viral infection of humans: epidemiology and control*. New York, Plenum med. Book, (1978). p. 53-69.
4. FUKUDA, Y. — Studies on the neutralizing antibody against adenovirus in childhood. Part I. Studies on age distribution of neutralizing antibody against adenovirus in Tokyo, Japan. *Acta paediatr. Jpn.* (overseas ed.), 63(7):1657-62, 1959.
5. GINSBERG, H.S. & DINGLE, J.H. — The adenovirus group. In: HORSFALL, F.L., JR. & TAMM, I., ed. — *Viral and rickettsial infections of man*. 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia, Igaku Shoin, 1972. p. 860-91.
6. HOSHIKA, T. — The age distribution of the neutralizing antibody against adenovirus (types 1-8) among the residents of Tokyo area. *Acta paediatr. Jpn.* (overseas ed.), 63(10):2363-9, 1959.
7. HUEBNER, R.J.; ROWE, W.P.; WARD, T.G.; PARROT, R.H. & BELL, J.A. — Adenoidal-pharyngeal-conjunctival agents. A new recognized group of common of the respiratory system. *New Eng. J. Med.*, 251(27):1077-86, 1954.
8. JORDAN, W.S., JR.; BADGER, G.F.; CURTISS, C.; DINGLE, J.H.; GINSBERG, H.S. & GOLD, E. — A study of illness in a group of Cleveland families. X. The occurrence of adenovirus infections. *Amer. J. Hyg.*, 64:336-48, 1956.
9. KASEL, J.A. — Adenoviruses. In: LENNETTE, E.H. & SCHMIDT, N.J., ed. — *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5<sup>th</sup>ed. Washington, APHA, 1979. p. 229-55.
10. SAKAKIBARA, S. — Distribution of neutralizing antibodies to adenoviruses (type 3 and type 7) in Shiga Prefecture. *Jpn. J. med. Technol.* (Japan), 22(1):54-6, 1972.
11. SATO, Y. — Studies on adenovirus (I). *Virus, Japan*, 8(3):227-33, 1958.
12. TAI, FU-HSIANG & GRAYSTON, J.T. — Adenovirus neutralizing antibodies in persons on Taiwan. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 109:881-4, 1962.
13. WATANABE, M. — Adenovirus antibodies in Gifu Prefecture. *Jpn. J. public Health*, 15(9):797-802, 1968.
14. WATANABE, M.; NODA, S. & YAMADA, F. — Seroepidemic survey of adenoviruses in Gifu Prefecture, Japan, 1960-1980. *Clin. Virol., Japan*, 9(4):459-63, 1981.
15. WENNER, H.A.; BERAN, G.W.; WESTON, J.; CHIN, H.D.Y.; ANDERSON, N.W. & GOLDSMITH, R. — The epidemiology of acute respiratory illness. 1. Observations on adenovirus infections prevailing in a group of families. *J. infect. Dis.*, 101:275-86, 1957.

Recebido para publicação em 25 de abril de 1984.

