

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS PARA OS VÍRUS DA INFLUENZA TIPOS A E B, EM HABITANTES DA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL, EM 1982 *

Maria Akiko ISHIDA **
Shunji SAKAKIBARA ***
Yoko YOKOTA ***
Asao YAMAGUCHI ***

RIALA6/596

ISHIDA, M.A.; SAKAKIBARA, S.; YOKOTA, Y. & YAMAGUCHI, A. — Frequência de anticorpos para os vírus da influenza tipos A e B em habitantes da cidade de São Paulo, Brasil, em 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):53-59, 1985.

RESUMO: Em fevereiro de 1982, foram colhidos 180 soros de 180 habitantes da cidade de São Paulo, de diferentes grupos etários, e realizadas titulações de anticorpos inibidores da hemaglutinação para os vírus da influenza tipos A e B. Os resultados obtidos com a estirpe A/Swine/Iowa/15/30 (H_1N_1) em pessoas do grupo etário acima de 60 anos, e A/PR/8/34 (H_1N_1), no grupo etário de 40 a 49 anos, revelaram percentagem elevada de soros positivos, determinados por infecção primária anterior por estes vírus ou variantes. Nos resultados obtidos com a estirpe A/Kumamoto/37/79 (H_1N_1), a elevada percentagem de soros positivos foi observada em habitantes dos grupos etários de 10 a 19 anos e 40 a 49 anos, indicando que cada grupo sofreu infecção primária pelo subtipo H_1N_1 em 1977 e de 1947 a 1957, respectivamente. O vírus antigenicamente relacionado ao subtipo H_2N_2 não circulou na população estudada desde a sua última pandemia ocorrida em 1957. Quanto à positividade de soros para os subtipos H_3N_2 , A/Bangkok/1/79 (H_3N_2) e A/Shiga/114/82 (H_3N_2) esta se deveu provavelmente às reações cruzadas entre as variantes antigênicas desse subtipo (H_3N_2). A variante de influenza antigenicamente relacionada a B/Shiga/1/71 e B/Kanagawa/3/76 circulou em São Paulo nestes últimos anos. Porém, os resultados obtidos com a estirpe B/Shiga/75/81 demonstraram percentagens de soros positivos e médias geométricas baixas, significando que nenhuma variante relacionada a essa estirpe, até o momento, circulou nesta população.

DESCRITORES: vírus da influenza, tipos A, B; anticorpos contra o vírus da influenza, frequência em habitantes da cidade de São Paulo, Brasil, 1982.

INTRODUÇÃO

O vírus da influenza, responsável por infecção respiratória no homem, causa infecções esporádicas durante o decorrer do ano, geralmente no inverno. Apresenta-se na forma de surtos epidêmicos e, eventualmente, pandêmicos. São conhecidos três tipos imunologicamente distintos do vírus: o vírus da influenza tipo A, que além de infecção humana pode causar infecção nos animais, e os tipos B e C, que só causam infecções humanas.

Nas epidemias causadas pelo vírus da influenza A em seres humanos, alta inci-

dência é encontrada no grupo etário de 5 a 14 anos, sendo mais freqüente no grupo etário de 5 a 9 anos de idade. Em relação ao vírus da influenza tipo B, sua incidência é semelhante à verificada para o vírus tipo A, porém, o vírus tipo B destaca-se por causar surtos localizados, principalmente em crianças de idade escolar e, esporadicamente, em adultos¹⁰. Já o vírus da influenza tipo C raramente causa epidemias.

É historicamente constatado que a epidemia da gripe espanhola, ocorrida durante os anos 1918 a 1919, foi causada pelo subtipo H_1N_1 que circulou até 1933. Em seguida, outra epidemia, causada por outro subtipo, predominou

* Realizado no Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, Japão.

** Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

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

entre os anos 1934 a 1946 e, posteriormente, a epidemia da gripe italiana, causada ainda por outro subtipo H_1N_1 , grassou durante os anos de 1947 a 1956. No ano de 1957 surgiu um novo subtipo, o H_2N_2 , causando a pandemia denominada gripe asiática, que circulou até 1967. Em 1968, surgiu outra pandemia causada agora pelo subtipo H_3N_2 , que até o momento tem circulado com formas de novas variantes por todo o mundo. No ano de 1977, foi registrada a epidemia da gripe russa^{10, 11}, causada pelo reaparecimento do subtipo H_1N_1 . Os subtipos H_1N_1 e H_2N_2 continuam em circulação na população mundial, causando epidemias em formas de novas variantes antigênicas^{6, 8, 13}.

No Brasil, PEREIRA et alii⁵ verificaram que a presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação para os vírus da influenza em soros de índios do Xingu, colhidos em 1966 e 1967, foi sensivelmente mais baixa que nas populações civilizadas. Em soros colhidos em 1969, estes autores obtiveram uma percentagem de 72,8% de soros positivos com títulos elevados e média geométrica igual a 35,2% para a variante A/SP/101/68 (H_2N_2), mostrando claramente a infecção desta população indígena por esta estirpe.

Em 1967, CANDEIAS & PEREIRA² estudaram a intensidade da ação da variante A/Hong Kong/68 (H_2N_2) sobre a população da cidade de São Paulo, Brasil, verificando que três quartos da população adulta adquiriram a infecção algum tempo após o aparecimento da variante, sendo que a maioria destes foi infectada no primeiro ano de prevalência deste vírus.

No ano de 1975, ANRAKU et alii¹ estudaram a circulação dos vírus de influenza na população infantil das cidades de São Paulo e Mogi das Cruzes (Brasil), concluindo que a variante A/Engl/42/72 (H_2N_2) era a que estava circulando com maior intensidade na época.

Em 1976, TAKIMOTO et alii¹², estudando a freqüência de anticorpos em habitantes da cidade de São Paulo, verificaram que as pessoas nascidas antes do ano de 1926 possuíam anticorpos na proporção de 63,3% para A/Swine/Wisconsin/1/67 (H_1N_1) e 87% para A/Mayo Clinic/103/74 (H_1N_1). Foi verificado, também, que cerca de 42% da população apresentava anticorpos para (A/SP/2/76 (H_2N_2), responsável pelo surto epidêmico da influenza ocorrido naquele ano.

No ano de 1982, CHAVES & NASCIMENTO³ determinaram anticorpos para três amostras de vírus da influenza A em soros coletados no Rio de Janeiro, entre os anos de 1976 a 1980. Verificaram que anticorpos para A/Victoria/3/75 (H_2N_2) foram encontrados em maior proporção, durante 1976, um

ano após o seu aparecimento em nosso meio. A freqüência da detecção de anticorpos para A/Texas/1/77 (H_2N_2) foi muito baixa, havendo pouca evidência de que este vírus tenha circulado amplamente. Anticorpos para A/USSR/90/77 (H_1N_1) estavam ausentes em soros de pessoas no grupo etário de 20 anos em 1976 e 1977.

Este trabalho objetivou determinar a resposta imunológica da população de São Paulo, em relação ao vírus da influenza tipo A e tipo B.

MATERIAL E MÉTODOS

Em fevereiro de 1982, foram colhidos, ao acaso, na Seção de Colheita de Material do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, 180 soros de 180 indivíduos de diferentes grupos etários, residentes na cidade de São Paulo. Estes não apresentavam sinais ou sintomas de quadro clínico respiratório e recorreram à Instituição para realizar exames laboratoriais diversos. As amostras de soros foram separadas em oito diferentes grupos etários: 0 a 4, 5 a 9, 10 a 19, 20 a 29, 30 a 39, 40 a 49, 50 a 59 e indivíduos acima de 60 anos. O número de soros para cada grupo foi respectivamente 11; 15; 25; 28; 26; 25; 32 e 18. A proporção geral de homens para mulheres na amostra foi de 1:2,4. As amostras colhidas no Instituto Adolfo Lutz foram enviadas ao Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, Japão, para serem estudadas.

As soluções diluentes utilizadas foram: solução de NaCl a 0,85% para lavar e suspender as hemácias de galinha, e solução tamponada por veronal (VBS) com 2% de albumina bovina (fração V)*, mais 0,5% de gelatina** a 1% para diluir os soros e os antígenos.

As hemácias de galinha sempre foram colhidas no mesmo dia em que se realizou a reação, sendo lavadas no mínimo três vezes com solução NaCl a 0,85%. A suspensão a 4% foi padronizada pelo método da cianomet-hemoglobina⁴.

Os antígenos utilizados foram: A/Swine/Iowa/15/30 (H_1N_1); A/PR/8/34 (H_1N_1); A/Kumamoto/37/79 (H_1N_1); A/Adachi/5/57 (H_2N_2); A/Bangkok/1/79 (H_2N_2) e B/Kanagawa/3/76***. Além destes antígenos, utilizaram-se A/Shiga//114/82 (H_2N_2), B/Shiga/1/71 e B/Shiga//75/81, que foram isolados e produzidos no Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga (Japão). Esses últimos antígenos por nós preparados no Japão foram produzidos na cavidade alantóide de ovos embrionados. Os líquidos

* Reheis Chemical Company, Kankakee, Ill., USA.

** DIFCO, Detroit, Michigan, USA.

*** Denka Institute of Biological Science, Tokyo, Japan.

alantóicos colhidos foram concentrados a 20.000 rpm, inativados com formalina a 10% e estabilizados com glicerina a 10%. Todos os antígenos foram guardados a 4°C e sempre titulados no dia da realização do teste para a determinação de 4 unidades hemaglutinantes de antígeno (UHA) em 0,025 ml.

Reação de inibição de hemaglutinação

Os soros foram tratados com "Receptor destroying enzyme" (RDE) * a fim de retirar os inibidores inespecíficos encontrados nos soros humanos. A cada volume do soro a ser tratado foram adicionados três volumes de RDE (100 unidades de RDE por ml), que, em seguida foram incubados em estufa a temperatura de 37°C, por uma noite. No dia seguinte, o soro tratado foi inativado em banho-maria a 56°C, por uma hora e, em seguida, foi adicionado a ele uma gota de papa de hemácias de galinha. Após agitação vigorosa, foi colocado em banho de gelo a 4°C, pelo período de 15 minutos. Finalmente, o soro foi centrifugado a 1.500 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi utilizado como soro diluído a 1:4.

A reação de inibição de hemaglutinação foi realizada em microplacas permanentes com fundo em U. Os soros foram diluídos com tampão VBS e as diluições feitas a partir de 1:4 até 1:512 no volume de 0,025 ml com o aparelho de diluição automática **. Aos soros diluídos nas microplacas foram adicionados 0,025 ml de antígeno de influenza contendo 4 UHA/0,025 ml. A mistura foi deixada à temperatura ambiente por uma hora e, em seguida, nela colocados 0,05 ml de suspensão de hemácias a 0,4%. Após agitação das placas e incubação à temperatura ambiente, foi realizada a leitura depois de uma hora. Foram realizados simultaneamente o controle do soro diluído a 1:4 e controle da suspensão de hemácias a 0,4%. A diluição inicial do soro foi considerada 1:16, pois a ele foram adicionados 0,025 ml de antígeno e 0,05 ml da suspensão de hemácias. O título de anticorpos inibidores de hemaglutinação foi definido como a última diluição do soro que inibiu completamente a atividade hemaglutinante do antígeno. Com as titulações dos anticorpos inibidores de hemaglutinação para os vírus da influenza tipos A e B em soros de indivíduos de diferentes grupos etários, calculou-se a percentagem de soros positivos a partir do título igual ou maior que 16 e, paralelamente, a partir de igual ou maior que 64.

RESULTADOS

As percentagens de soros positivos para os vírus da influenza tipos A e B, e a média geométrica dos títulos de anticorpos, estão

representadas nas figuras 1 e 2 das páginas 56 e 57.

Em relação à estirpe A/Swine/Iowa/15/30 (H_1N_1), o grupo etário de indivíduos acima de 60 anos apresentou 88,9% (2^{7.2}) *** de soros positivos. No grupo etário de 50 a 59 anos a percentagem foi menor que 16%.

Com a estirpe A/PR/8/34 (H_1N_1) obtiveram-se, nos indivíduos acima de 40 anos, 94,4% (2^{5.9}) a 100% (2^{7.2}) de soros positivos e, nos grupos etários abaixo de 39 anos, às percentagens observadas foram menores que 38,4%.

Os resultados com a estirpe A/Kumamoto/37/79 (H_1N_1) revelaram que em todos os grupos etários as percentagens de soros positivos foram acima de 53,3%, sendo que, nos grupos etários de 10 a 19, 30 a 39 e 40 a 49 anos de idade, as percentagens foram mais elevadas, isto é, 92% (2⁷), 92,3% (2^{6.4}) e 100% (2⁷), respectivamente.

Quando usamos a estirpe A/Adachi/5/57 (H_2N_2), os resultados obtidos em indivíduos com idade acima de 20 anos apresentaram percentagens elevadas de soros positivos, variando entre 93,8% (2^{8.5}) e 100% (2^{8.8}). No grupo etário de 10 a 19 anos a percentagem foi de 60% (2^{6.6}) e, em crianças abaixo de 9 anos, a percentagem foi de 13,3% (2⁴).

Com a estirpe A/Bangkok/1/79 (H_2N_2) observamos que todos os grupos etários demonstraram elevadas percentagens de soros positivos entre 81,8% (2^{5.4}) e 100% (2^{6.4}). Entretanto, os resultados com a variante recentemente isolada em Shiga (Japão), denominada A/Shiga/144/82 (H_2N_2), revelaram que nos indivíduos pertencentes aos grupos etários de 10 a 59 anos as percentagens obtidas foram baixas, isto é, entre 50% (2^{4.9}) e 70,8% (2^{5.8}). Em crianças com idade abaixo de 9 anos e, em adultos acima de 60 anos, as percentagens obtidas com esta estirpe foram 26,3% (2^{7.5}) e 39,1% (2^{6.8}), respectivamente. As percentagens de soros positivos para a estirpe A/Shiga/114/82 (H_2N_2) em todos os grupos etários foram menores que as apresentadas pela estirpe A/Bangkok/1/79 (H_2N_2), ainda que as médias geométricas dos títulos de anticorpos sejam elevadas com estes dois antígenos.

Os resultados obtidos com as estirpes do vírus da influenza tipo B constataram que, com o antígeno B/Shiga/1/71, os indivíduos dos grupos etários entre 10 e 39 anos e acima de 60 anos apresentaram percentagens de soros positivos que variaram entre 61,5% (2^{4.7}) a 89,3% (2^{5.9}). Em outros grupos etários, de 0 a 9 anos e 40 a 49 anos, as percentagens obtidas com este antígeno ficaram entre 0 e 32% (2^{5.4}). Por outro lado, com a estirpe do vírus B/Kanagawa/3/76 os resultados revelaram que os indivíduos com idade

* Takeda Pharmaceutical Company LTD., Osaka, Japan.

** Cooke Engineering Company, San Mateo, Califórnia.

*** Média geométrica indicada entre parênteses.

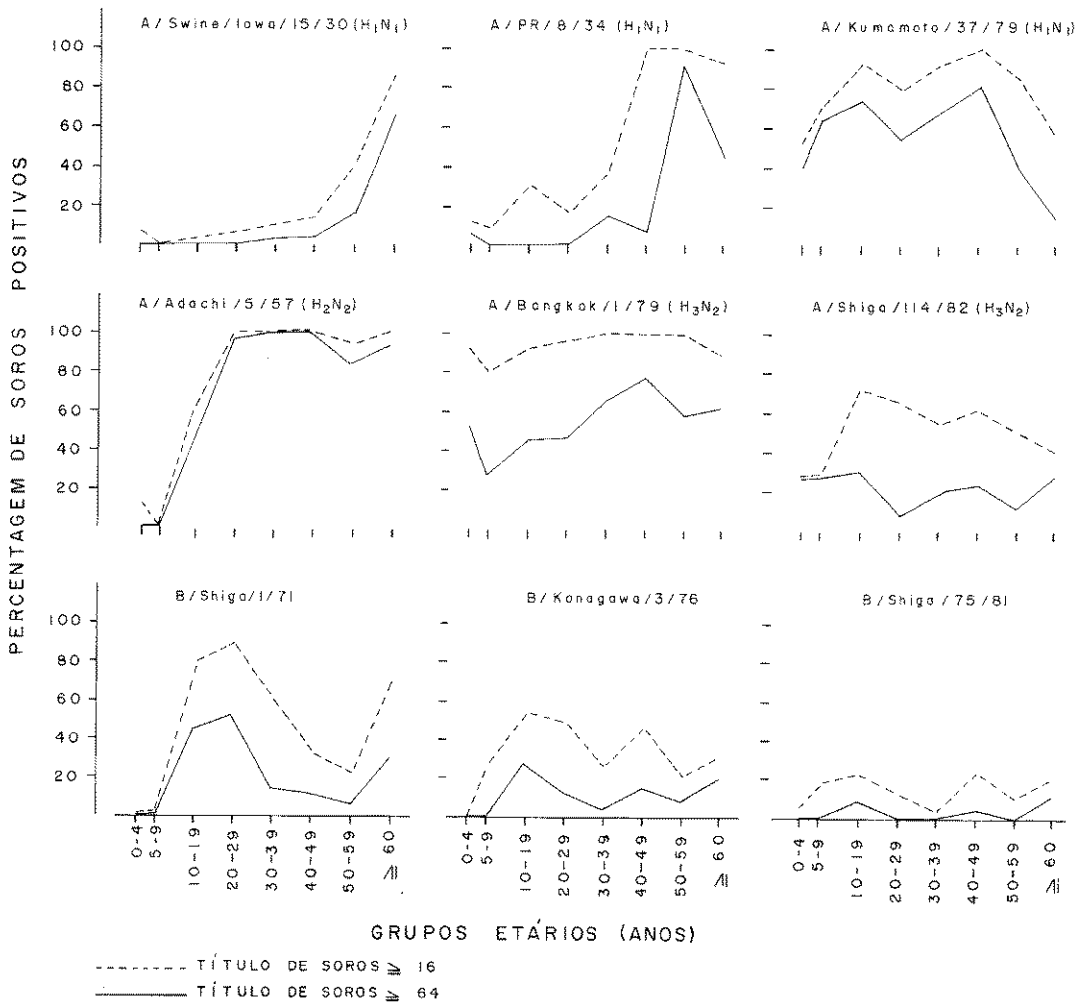


FIGURA 1 — Percentagem de soros positivos para vírus de influenza tipos A(H₁N₁), A(H₂N₂), A(H₃N₂) e tipo B em indivíduos de diferentes grupos etários da cidade de São Paulo, Brasil, 1982.

acima de 5 anos exibiram percentagens de soros positivos que variaram entre 21,9% (2^{5,1}) e 55% (2^{5,4}), percentagem menor que a apresentada com a estirpe anterior. Os resultados em relação à estirpe B/Shiga/75/81 revelaram que todos os soros testados apresentaram percentagens abaixo de 24% (2^{4,7}).

Os resultados obtidos nas reações de inibição de hemaglutinação, quando consideramos os soros positivos com títulos igual ou maior que 64, apresentaram, de modo geral, paralelismo aos obtidos quando consideramos os soros positivos com título igual ou maior que 16. Este paralelismo foi evidente na maioria das estirpes de vírus da influenza tipos

A e B usados, não sendo, entretanto, evidente quando os títulos dos soros testados foram baixos.

DISCUSSÃO

Nossos resultados constatarem que em pessoas com idade acima de 60 anos, nascidas antes do ano de 1922, a percentagem de soros positivos para a estirpe A/Swine/Iowa/15/30 (H₁N₁) foi de 88,9% (2^{7,2}), achados esses semelhantes aos anteriormente relatados por TAKIMOTO et alii¹² com estirpes relacionadas.

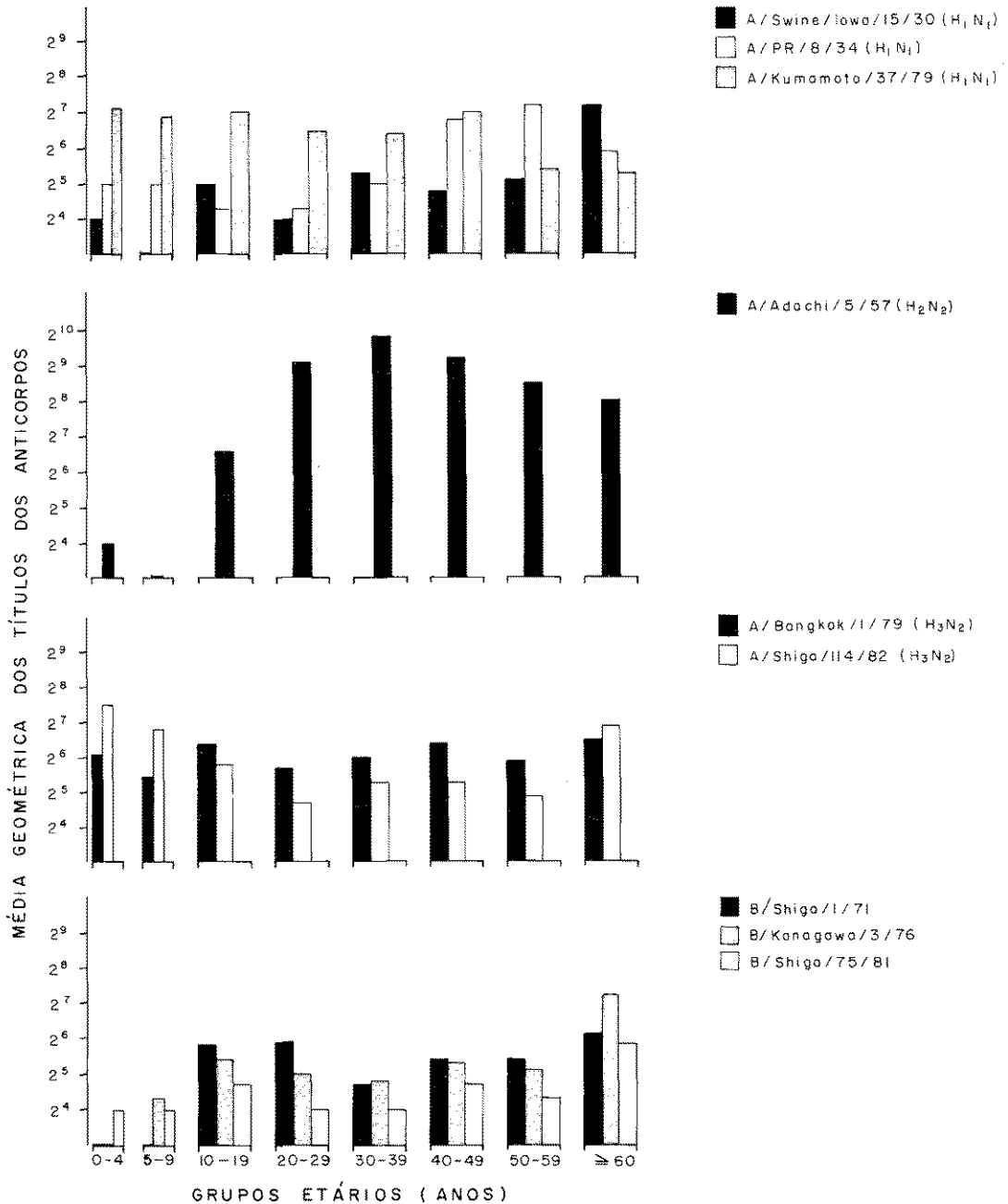


FIGURA 2 — Média geométrica dos títulos dos anticorpos hemaglutinantes para vírus de influenza tipos A e B em indivíduos de diferentes grupos etários da cidade de São Paulo, Brasil, 1982.

A alta percentagem de soros positivos encontrada nos grupos etários de 40 a 49 e 50 a 59 anos (100%) frente à estirpe A/PR/8/34 (H₁N₁) significa que todas as pessoas desta população estudada adquiriram a infecção na sua infância por ocasião da epidemia desta estirpe.

Estudos realizados em São Paulo por TAKIMOTO et alii¹³, durante os anos de 1976 a 1978, mostraram que houve o retorno do subtipo H₁N₁ que circulou nos anos 1947 a 1957, porém, o vírus recém-isolado A/Br/11/78 (H₁N₁) revelou-se diferente do protótipo A/FM/1/47 (H₁N₁) e da estirpe A/USSR/90/77 (H₁N₁) que prevaleceu em outros países na mesma época.

A estirpe A/Kumamoto/37/79 (H₁N₁), utilizada neste trabalho, isolada no Japão, apresenta pequena variação antigênica em relação às estirpes A/Br/11/78 (H₁N₁) e A/USSR/90/77 (H₁N₁)¹¹. Os soros de indivíduos dos grupos etários de 10 a 19 e 40 a 49 anos apresentaram percentagens elevadas de soros positivos para a estirpe A/Kumamoto/37/79 (H₁N₁) e a média geométrica dos títulos de anticorpos foram elevadas em todos os grupos etários, demonstrando que os indivíduos destes grupos responderam com títulos elevados de anticorpos aos diferentes vírus da infecção primária do subtipo H₁N₁. Isto é, indivíduos de 10 a 19 anos infectaram-se quando houve o reaparecimento deste subtipo no ano de 1977 e os do grupo etário de 40 a 49 anos adquiriram a infecção durante a epidemia iniciada no ano de 1947. As elevadas médias geométricas encontradas em todas as idades demonstram claramente que este subtipo continua circulando na população.

Os resultados obtidos com a estirpe A/Adachi/5/57 (H₂N₂) revelaram que as percentagens de soros positivos encontradas foram elevadas (60 a 100%), assim como as médias geométricas dos títulos dos anticorpos (2^{5.6} a 2^{9.3}) nos indivíduos acima de 10 anos, correspondendo às pessoas que adquiriram a infecção durante a pandemia por este subtipo, no ano de 1957. Na figura 1, considerando as percentagens dos indivíduos com soros positivos de títulos igual ou acima de 64, podemos observar claramente que este subtipo não prevaleceu mais na população desde a sua última pandemia.

No ano de 1968, surgiu o subtipo H₂N₂, que causou a pandemia da gripe chamada Hong Kong e, desde então, semelhantemente ao que acontece com o subtipo H₁N₁, o subtipo H₂N₂ continua circulando em formas de novas variantes antigênicas, em diversas populações^{6, 7, 10, 13}.

Já na cidade de São Paulo, no ano de 1976, ocorreu um surto de influenza de proporções consideráveis, causado por vírus antigenicamente relacionado ao A/Victoria/3/75 (H₂N₂),

enquanto que, em 1977, os vírus isolados foram em sua maioria semelhantes ao A/Texas/1/77 (H₂N₂), mas a estirpe do ano anterior ainda foi prevalente na população¹³. Neste sentido, vale salientar que SMITH & DAVIES⁹ estudaram as respostas para o antígeno hemaglutinina e neuraminidase do vírus da influenza tipo A (H₂N₂), num período de quatro anos e verificaram que as estirpes do subtipo H₂N₂ apresentavam reações cruzadas com as variantes antigênicas anteriores.

Os resultados obtidos com a estirpe A/Bangkok/1/79 (H₂N₂) demonstraram que todos os indivíduos possuíam altas percentagens de soros positivos (81,9 a 100%) e a média geométrica dos títulos de anticorpos foram relativamente elevadas (2^{5.4} a 2^{6.5}). Este fato provavelmente ocorreu pela reação entre as outras variantes do mesmo subtipo que circularam nesta população. Em relação à estirpe A/Shiga/114/82 (H₂N₂) as percentagens de soros positivos foram menores do que as encontradas frente ao A/Bangkok/1/79 (H₂N₂) e, quando foram consideradas as percentagens de soros positivos de título igual ou acima de 64 para A/Shiga/114/82, essas percentagens foram bem menores, sugerindo que nenhum vírus antigenicamente relacionado circulou na cidade de São Paulo.

Os resultados obtidos para a estirpe B/Shiga/1/71 mostraram percentagens de soros positivos ligeiramente mais elevadas que para o B/Kanagawa/3/76, porém, as médias geométricas ligeiramente altas para os dois vírus foram semelhantes, sugerindo que alguma variante antigenicamente relacionada circulou na cidade de São Paulo. Para a estirpe B/Shiga/75/81 a percentagem de soros positivos foi abaixo de 24% e a média geométrica também baixa, significando que nenhuma variante relacionada a essa estirpe, até o momento, circulou nesta população.

Nossos dados, mostrando as percentagens de indivíduos imunes e/ou susceptíveis ao vírus da influenza tipos A e B em habitantes da cidade de São Paulo, constituem-se em mais uma contribuição ao sistema de vigilância epidemiológica destas infecções, principalmente orientando as medidas sanitárias cabíveis durante a ocorrência de surtos e/ou epidemias.

Agradecimentos

Ao Governo da Província de Shiga, Japão, por ter oferecido a bolsa de estudo; ao Dr. Bun-iti Nakagawa, diretor do Instituto de Saúde Pública e Meio Ambiente da Província de Shiga, Japão, onde foi realizado este trabalho e à Seção de Colheita de Material do Instituto Adolfo Lutz, por ter colaborado na colheita das amostras de sangue.

ISHIDA, M.A.; SAKAKIBARA, S.; YOKOTA, Y. & YAMAGUCHI, A. — Frequency of antibodies against type A and type B influenza virus in inhabitants of São Paulo City, Brazil, in 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):53-59, 1985.

ABSTRACT: The hemagglutination-inhibiting antibodies against type A and type B influenza viruses were tested in 180 sera from 180 persons of various age groups of inhabitants of São Paulo City. The specimens were collected in February 1982. The high percent of positives sera against strains A/Swine/Iowa/15/30 (H₁N₁) in persons over 60 year old, and A/PR/8/34 (H₁N₁) in persons 40 to 49 year old showed that the persons were infected by this virus or variants when they were children. The results with the strain A/Kumamoto/37/79 (H₁N₁) showed that the sera of persons 10 to 19 and 40 to 49 year old replayed in high percent of positives sera against the subtype H₂N₂, from the primary infection in 1977 and 1947-1957 respectively. Subtype H₂N₂ had not circulated in this population since the last pandemic in 1957. The strain A/Bangkok/1/79 (H₂N₂) and A/Shiga/114/82 (H₂N₂) showed high percent of positives sera in all age groups, probably because of cross reaction among other antigenic variants of subtype H₂N₂. A strain of influenza related to B/Shiga/1/71 and B/Kanagawa/3/76 circulated in São Paulo but the infection by strain B/Shiga/75/81 was not disclosed in the population studied because both the percentages of positives sera and geometric mean of titers were slow in all age groups.

DESCRIPTORS: influenza virus, types A, B; antibodies against influenza virus, frequency in inhabitants of São Paulo City, Brazil, 1982.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANRAKU, M.M.C.; GODOY, C.V.F.; COSTA, G.A.; KIMURA, E.M.; KAMIYAMA, M.Y. & FONSECA, M.H.M. — Circulação dos vírus da influenza tipos A e B, em amstras de população infantil das cidades de São Paulo e Mogi das Cruzes. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 16:94-8, 1977.
2. CANDEIAS, J.A.N. & PEREIRA, M.S. — The measurent by serological means of the impact of the Hong Kong/68 Influenza virus on a population. *Rev. Saúde pública*, 6:85-8, 1972.
3. CHAVES, J.R.S. & NASCIMENTO, J.P. — Influenza surveillance in Rio de Janeiro: a serological study. *Rev. Microbiol.*, 13: 161-5, 1982.
4. PALMER, D.F.; COLEMAN, M.T.; DOWDLE, W.R. SCHILD, G.C. — *Advanced laboratory techniques for influenza diagnosis*. Atlanta, Georgia, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, 1975. p. 25-62.
5. PEREIRA, H.G.; BARUZZI, R.G. & CARVALHO, R.P.S. — Estudo de anticorpos contra os vírus da influenza em índios do Alto Xingu (Brasil Central). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 13:285-91, 1971.
6. PEREIRA, M.S.; ASSAAD, F.A. & DELON, P.J. — Influenza surveillance. *Bull. WHO*, 56:193-203, 1978.
7. SAKAKIBARA, S. — Epidemic of influenza in Shiga Prefecture (1973-1975). *Rep. Shiga Pref. Inst. Pub. Hlth. & Environ. Sci.*, 10:22-8, 1974.
8. SAKAKIBARA, S. & YOKOTA, Y. — Epidemic of influenza in Shiga Prefecture (1980). *Rep. Shiga Pref. Inst. Pub. Hlth. & Environ. Sci.*, 15:95-9, 1980.
9. SMITH, A.J. & DAVIES, J.R. — Natural infection with influenza A(H₂N₂). The development, persistence and effect of antibodies to the surface antigens. *J. Hyg., Camb.*, 77:271-82, 1976.
10. STUART-HARRIS, C.H. & SCHILD, G.C. — *Influenza. The viruses and disease*. London, Edward Arnold, 1976. p. 112-43.
11. TAKEUCHI, Y. — Variação antigênica do vírus da influenza e o efeito preventivo da vacina. In: FUKUMI, H., ed. — *Vaccines against influenza*. Tokyo, Igaku Shoin, 1982. p. 36-86.
12. TAKIMOTO, S.; BARBOSA, H.H.G. & SALLES-GOMES, L.F. — Influenza suína: Freqüência de anticorpos em habitantes da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:71-5, 1978.
13. TAKIMOTO, S.; PANNUTI, C.S.; SALLES-GOMES, L.F.; BARBOSA, H.H.G.; MORAES, V.C.M. & HIGUCHI, A.E.C. — Influenza em São Paulo, durante os anos 1976-1978. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 24:49-55, 1982.

