

## INFLUENZA EM SÃO PAULO DURANTE OS ANOS 1976-1978

S. TAKIMOTO (1), C. S. PANNUTI (2), L. F. SALLES GOMES (3), H. H. G. BARBOSA (1),  
V. C. M. MORAES (2) e A. E. C. HIGUCHI (4)

### RESUMO

A ocorrência das infecções por vírus da influenza A e B foi estudada na cidade de São Paulo, nos anos de 1976-78, através da tentativa de isolamento de vírus e reações sorológicas. Nos três anos consecutivos o vírus da influenza do tipo A demonstrou variação antigênica. Em 1976 foram detectadas infecções por vírus antigenicamente relacionados ao A/Victoria/3/75 (H3N2), enquanto que em 1977, em sua maioria, os isolados demonstraram ser semelhantes ao A/Texas/1/77 (H3N2), mas a estirpe prevalente no ano anterior ainda continuou em circulação. Em 1978 foi verificado o retorno do subtipo H1N1 que circulou nos anos 1947-1957. Esse vírus demonstrou ligeira diferença antigênica da estirpe A/USSR/90/77 (H1N1), prevalente naquela ocasião em outros países. Infecções por vírus da influenza do tipo B foram detectadas em 1976 e 1977 mas não foram verificadas em 1978.

### INTRODUÇÃO

Das infecções a vírus que afetam o trato respiratório a influenza ou gripe é, sem dúvida, a mais estudada; no entanto, permanecem ainda objeto de pesquisa os fatores e causas que determinam o aparecimento das variações antigênicas que são responsáveis pelos surtos, epidemias e pandemias desta infecção.

O Instituto Adolfo Lutz, credenciado como Centro Nacional da Influenza da Organização Mundial da Saúde, vem todos os anos, mantendo vigilância epidemiológica com o objetivo duplo de identificar não só os tipos de vírus da influenza que estão circulando em nosso meio, isto é, na cidade de São Paulo, como também, fornecer a amostra do vírus prevalente ao Instituto Butantã para, se necessário for, proceder-se à feitura da vacina contra a infecção.

Sob o ponto de vista epidemiológico e virológico desperta grande interesse o estudo da

epidemiologia da influenza pelo fato de exibir cada vez maior complexidade decorrente da presença simultânea de variantes antigenicamente distinguíveis do vírus da influenza A.

Na literatura especializada nacional encontramos poucas publicações com descrições de surtos de influenza ocorridos em nosso país onde são correlacionados os sintomas clínicos e sua gravidade, com o isolamento da amostra do vírus<sup>8</sup> ou ainda, relatos de epidemias ocorridas em hospital infantil<sup>6</sup>.

Existem também em nossa literatura, poucas informações sobre a frequência de anticorpos para influenza, ou a porcentagem de imunes e/ou suscetíveis por grupos etários na população de São Paulo. Neste sentido, CANDEIAS & PEREIRA<sup>2</sup> verificaram nos anos 1967, 69, 70 e 71 a conversão de anticorpos para o vírus A2/Hong Kong/68 em três quartos da população estudada e em 1975, ANRAKU & col.<sup>1</sup>

- (1) Seção de Vírus Respiratórios Entéricos e Outros, Serviço de Virologia, TL-BM, Instituto Adolfo Lutz.
- (2) Departamento de Doenças Transmissíveis, Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo.
- (3) Serviço de Virologia, TL-BM, Instituto Adolfo Lutz.
- (4) Departamento de Pediatria, Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo.

examinaram soros de crianças para verificação de anticorpos para os vírus A/Eng1/42/72 (H3N2), A/SP/1/68 (H3N2) e B/SP/69. TAKIMOTO & col.<sup>17</sup> em 1978 demonstraram que 42% da população de São Paulo, após o surto que grassou em 1976, estavam imunes ao vírus A/São Paulo/2/76 (H3N2) semelhante ao A/Victoria/3/75 (H3N2).

Neste trabalho apresentamos os resultados obtidos em laboratório a partir dos materiais colhidos de pacientes com diagnóstico clínico de influenza ou semelhante à influenza, com manifestações de vias aéreas superiores e/ou inferiores que procuravam o Hospital dos Servidores do Estado de São Paulo no período de 1976 a 1978. Tem o mesmo por objetivo informar e documentar com continuidade a ocorrência das variantes do vírus da influenza em nosso meio no período estudado.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Em 1976 foram colhidos material orofaríngeo de 70 casos de infecção respiratória e 28 pares de amostras de sangue, a primeira na fase aguda da infecção e a segunda na convalescença. Em 1977 foram colhidos material orofaríngeo de 38 casos de infecção respiratória e 19 pares de amostras de sangue. Em 1978 foram colhidos material de orofaringe de 64 casos de infecções respiratórias e 34 pares de amostras de sangue.

Todos os materiais foram obtidos de voluntários que apresentavam quadro clínico de doença respiratória aguda compatível com a influenza apresentando sintomas e sinais como: febre igual ou superior a 38°C, calafrios, dores musculares, hiperemia conjuntival, obstrução nasal, dor de garganta, tosse, e eventualmente dispnéia e estertores pulmonares.

O material orofaríngeo foi colhido por gargarejo com caldo simples, usado para cultura de bactérias, e imediatamente congelado a -196°C em nitrogênio líquido, até sua chegada ao laboratório onde era guardado a -70°C até seu processamento.

As inoculações foram feitas em cavidade amniótica de ovos embrionados de galinha de 10 dias de incubação e em sistemas celulares, linhagens Hep2 e BHK-21, células humanas e de hamster respectivamente.

Os materiais também foram semeados em meio de cultura para *Mycoplasma pneumoniae*.

Dos ovos embrionados de galinha, após 72 horas de incubação em estufa a 33°C, eram colhidos os líquidos amniótico e alantóico. Em seguida, procedia-se às reações de hemaglutinação com hemácias de galinha tendo em vista verificar a presença de vírus.

As culturas celulares inoculadas foram incubadas a 35°C e examinadas diariamente durante 14 dias para constatação do efeito citopático.

As amostras inicialmente negativas, tanto em ovos como em sistemas celulares, foram passadas em série por mais duas vezes antes de serem rotuladas como negativas.

Os vírus da influenza isolados foram por nós identificados através de soro-imune padrão. A confirmação da identificação foi posteriormente feita pelo Dr. ALAN P. KENDAL, WHO, International Influenza Center for the Americas, C.D.C., Atlanta, Georgia.

Os soros imunes padrões empregados foram os seguintes, fornecidos pelo C.D.C.: A/Hong Kong/1/68 (H3N2), A/England/42/72 (H3N2), A/Port Chalmers/1/73 (H3N2), A/Victoria/3/75 (H3N2), A/Texas/1/77 (H3N2), A/USSR/90/77 (H1N1), B/Hong Kong/5/72.

Os adenovírus foram identificados pela reação de fixação do complemento na qual foi usado soro-imune grupo específico produzido no I.A.L.; o vírus respiratório sincicial foi identificado através da reação de neutralização em culturas celulares com o soro padrão fornecido pelo Vírus Reference Laboratory, Colindale, London.

Os soros pareados, isto é, retirados na fase aguda e convalescente, foram examinados através da reação de fixação do complemento para os adenovírus e respiratório sincicial e, através da reação de inibição da hemaglutinação, para os vírus da influenza e parainfluenza tipo I. Os soros para estas últimas reações foram sempre tratados previamente com RDE (enzima destruidora de receptores)<sup>14</sup>. Os anticorpos para *Mycoplasma pneumoniae* foram examinados pela reação da inibição metabólica<sup>14</sup>.

## RESULTADOS

Dos 75 casos de infecção respiratória estudados em 1976, em 70 tentou-se o isolamento dos vírus respiratórios, dos quais foram isoladas 31 amostras de vírus da influenza; destas, 30 eram do tipo A (H3N2) e uma, Influenza tipo B. Com exceção de dois casos que demonstraram ser mais estreitamente relacionados ao A/Brasil/25/76 (H3N2), variante isolada pela primeira vez em Belém do Pará, todos eram antigenicamente relacionados ao A/Victoria/3/75 (H3N2) (Tabela I).

De 28 soros pareados estudados, 20 foram positivos, isto é, apresentaram conversão significativa do título de anticorpos, sendo 17 para os vírus H3N2, dois para o vírus da Influenza de tipo B e um para adenovírus (Tabela I). Em um caso houve conversão significativa exclusivamente para A/Hong Kong/1/68, não tendo sido observada nesse paciente conversão para nenhum dos outros vírus H3N2 conhecidos. Em outro caso clínico, houve conversão concomitante para vírus da influenza do tipo A (H3N2) e para adenovírus (Tabela I).

T A B E L A I

Resultados obtidos através do isolamento de vírus e do diagnóstico sorológico

Ano	N.º de casos estudados	Isolamento de vírus		Diagnóstico sorológico	
			Vírus isolados	N.º de soros pareados	» significativo do título de acs.
1976	70	28	≡ A/Victoria/3/75*	28	16 infl. A* 1 infl. A* + adenovírus 2 infl. B 1 adenovírus
		2	≡ A/Brasil/25/76*		
		1	infl. B		
1977	38	4	≡ A/Texas/1/77*	19	5 infl. A* 2 infl. B 1 adenovírus 1 M. pneumoniae
		2	≡ A/Victoria/3/75*		
		3	adenovírus		
		1	poliovírus III		
1978	64	11	≡ A/Brasil/11/78**	34	5 infl. A** 2 adenovírus 2 VRS 1 M. pneumoniae
		6	adenovírus		
		1	VRS		
		1	poliovírus I		

» — aumento; acs. — anticorpos; infl. — vírus da influenza; VRS — vírus respiratório sincicial; \* — vírus da influenza A (H3N2); \*\* — vírus da influenza A (H1N1)

Em 1976 não houve predominância da morbidade da infecção por determinado grupo etário, todos os grupos sendo indistintamente infectados pelo vírus da influenza (Tabela II). O surto teve início em fins de março e prosseguiu até maio, havendo diminuição súbita da incidência de gripe de junho em diante (Fig. 1).

Em 1977 foram estudados 38 casos de infecção de vias respiratórias. Foi isolado o total de dez vírus, dos quais, seis eram vírus da influenza do tipo A; destes, quatro eram antigenicamente relacionados ao A/Texas/1/77 (H3N2) e dois ao vírus que ocorreu durante o ano anterior em nosso meio, isto é, o A/Victoria/3/75 (H3N2). Três adenovírus e um poliovírus tipo 3 foram isolados de casos cujos sintomas e sinais eram compatíveis com infecção das vias aéreas inferiores.

Do total de 19 casos estudados sorologicamente, foram verificadas conversões significativas dos títulos em nove; destes, cinco para o vírus da influenza A (H3N2), dois para o vírus da influenza B, um para adenovírus e um para *Mycoplasma pneumoniae*. Estes dois últimos resultados foram também de casos de infecção das vias aéreas inferiores.

Neste ano, o vírus da influenza foi mais frequentemente isolado de adultos (Tabela II), e a maior incidência da infecção foi verificada em julho (Fig. 1).

Em 1978, de 64 pacientes estudados foi isolado em onze casos o vírus da influenza do tipo A, antigenicamente relacionado ao A/Brasil/11/78 (H1N1), seis amostras de adenovírus, uma de vírus respiratório sincicial e uma de poliovírus tipo I. De 34 soros pareados obtidos

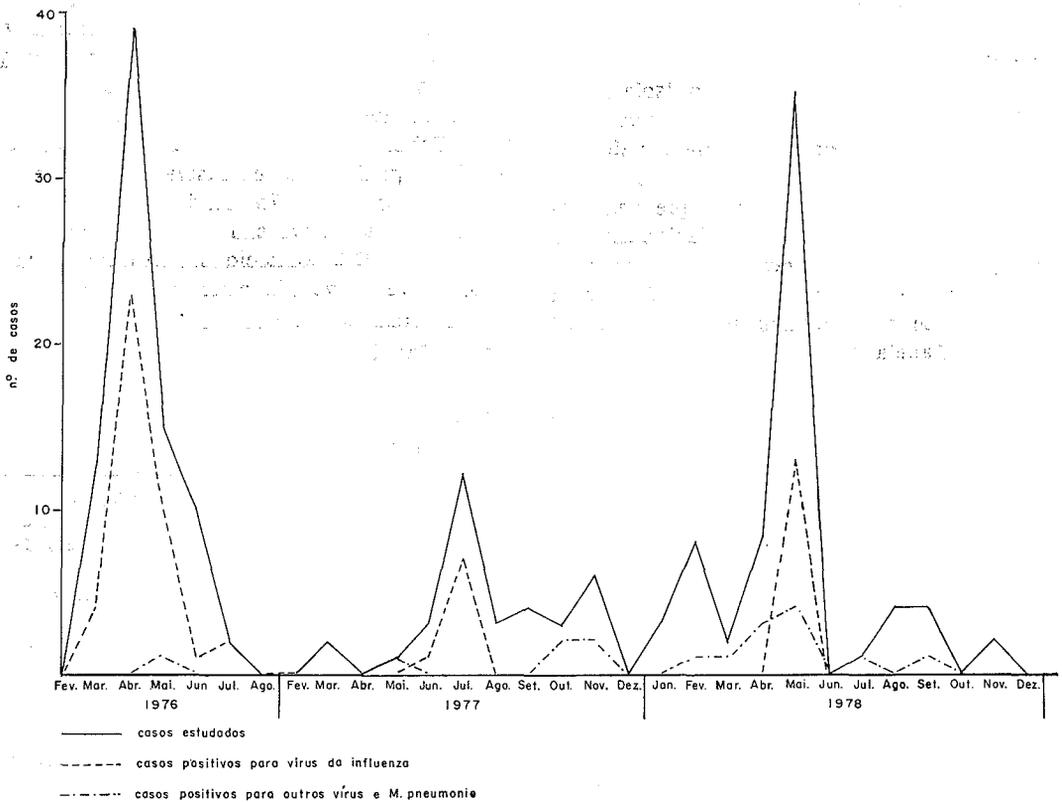


Fig. 1 — Incidência de vírus respiratórios, 1976-1978

foi verificada conversão significativa do título de anticorpos para vírus da influenza (H1N1) em cinco, adenovírus em dois, e vírus respiratório sincicial em dois. Um soro revelou aumento significativo de título para *Mycoplasma pneumoniae*.

A incidência maior de casos foi observada em maio daquele ano (Fig. 1) e as crianças foram as predominantemente atingidas. Com exceção de um paciente de vinte e quatro anos de idade, todos tinham 16 anos ou menos (Tabela II).

TABELA II

Casos de influenza por grupo etário confirmado pelo isolamento do vírus e/ou conversão sorológica significativa

Idade anos	1976		1977		1978	
	N.º de casos estudados	positivos	N.º de casos estudados	positivos	N.º de casos estudados	positivos
0-10	19	8(42,1%)	15	*	34	11(32,3%)*
11-20	9	4(44,4%)	1	*	8	2(25,0%)*
21-30	23	10(43,5%)	11	7(63,6%)	9	*
≥31	24	16(66,7%)*	8	7(87,5%)	13	*
Total	75	38(50,7%)	35	19(54,3%)	64	14(21,9%)

\* — Não foram incluídos os casos positivos para outros vírus

## DISCUSSÃO

Em São Paulo, repetindo o que ocorre em todo o mundo, praticamente todos os anos enfrentamos surtos de influenza, alguns de maior

morbidade que outros, com duração média de dois meses. Diferentemente de outros países, nos quais os surtos atingem maior incidência no inverno e início da primavera<sup>3,5,9,11,12</sup>, em nosso meio a maior incidência de casos de gri-

pe foi registrada no outono, com exceção do surto ocorrido em 1977 que o ocorreu em pleno inverno.

O surto de influenza de proporções consideráveis que ocorreu em 1976 em nosso meio teve como causa, vírus antigenicamente relacionado ao A/Victoria/3/75 (H3N2); nesse surto todas as faixas etárias foram atingidas. No mesmo ano, um inquérito sorológico efetuado em diferentes grupos etários veio confirmar esta assertiva, pois os resultados demonstraram que todos os grupos estudados apresentavam anticorpos para o A/Victoria/3/75<sup>17</sup>. Paradoxalmente à expectativa, infecções anteriores pelos vírus do mesmo subtipo H3N2, tais como o A/Hong Kong/1/68, A/England/42/72 e A/Port Chalmers/1/73, parecem não ter protegido, como era de se esperar, a população contra a infecção pelo A/Victoria/3/75 (H3N2).

Ainda em 1976, verificou-se elevação significativa do título de anticorpos para A/Hong Kong/1/68 em um caso, sem haver qualquer elevação significativa para outros vírus, indicando que o vírus que surgiu em 1968, ainda estava em circulação naquele ano. Este fato vem sendo verificado por outros Autores em outros países, isto é, a presença de duas variantes H3N2 sendo uma delas quase sempre de um vírus prevalente no ano anterior<sup>4</sup>. Assim é que em 1977, infecções pelo A/Victoria/3/75 ainda puderam ser observadas, embora houvesse naquela época prevalência de nova variante, antigenicamente relacionada ao A/Texas/1/77 (H3N2).

MASUREL & col.<sup>7</sup>, demonstraram que vírus da influenza A com hemaglutinina semelhante ou idêntica as H2 (1889) e H3 (1891) ocorreram no fim do século XIX na mesma seqüência em que foi verificado em 1957 e 1968. Segundo esses Autores, poder-se-ia, em consequência, prever a ocorrência de vírus suíno em 1986 já que pandemia por esse vírus ocorreu em 1918. Neste sentido é interessante frisar que embora fosse sugerida a possibilidade de reaparecimento do vírus da influenza do tipo A prevalente nos anos passados, não tinha sido previsto o aparecimento do vírus H1N1, que circulou na população humana de 1947 a 1957. Em contraste com a circulação extremamente limitada do vírus suíno (HswIN1), que causou somente um surto localizado em New Jersey em 1976, o vírus

H1N1 propagou-se pelo mundo inteiro produzindo surtos de gripe<sup>13,18</sup>.

O vírus prevalente em fins de 1977 na Europa e Ásia e em 1978 no Brasil, apesar de pertencer ao subtipo H1N1, não é idêntico ao protótipo A/FM/1/47. Ainda mais, o vírus isolado em nosso meio, também diferiu dos isolados na Europa, Ásia e Estados Unidos, mas revelou-se semelhante àqueles vírus isolados em Belém (Pará) e no Chile<sup>19</sup>. A mesma estirpe de vírus causou posteriormente, surtos nos Estados Unidos da América do Norte<sup>20</sup>.

O vírus H3N2 não foi mais observado em nosso meio em 1978, embora continuasse prevalente em outros países<sup>19</sup>. Contudo, deve levar-se em consideração que o número de casos por nós estudado naquele ano foi pequeno.

O vírus do subtipo H1N1 foi isolado facilmente tal qual o H3N2 em ovos embrionados de galinha, porém, em muitas tentativas de isolamento foram necessárias duas passagens sucessivas para que a presença do vírus H1N1 fosse detectada.

É de se notar que os vírus da influenza B são pouco isolados em nosso meio; aparentemente isso decorreria do uso de sistemas pouco suscetíveis para o seu isolamento. Tivemos pelo menos três casos clínicos de influenza comprovados posteriormente, em que as tentativas de isolamento na fase aguda da infecção resultaram negativas, embora tenha sido depois comprovada sorologicamente.

A utilização de culturas de células mais sensíveis que possibilitariam o isolamento do vírus da influenza tipo B e da parainfluenza tais como, cultura primária de rim de macaco Rhesus e/ou a linhagem MDCK (rim de cão) certamente teriam possibilitado o isolamento de maior número de amostras de vírus.

O número de casos de infecções respiratórias estudados, ainda que possa ser considerado razoável, dependia diretamente dos pacientes que espontaneamente procuravam o Hospital do Servidor Público Estadual, o que de toda a forma refletia as variações da incidência da infecção na população nos vários meses do ano.

Em decorrência do interesse na vigilância epidemiológica da infecção pelo vírus da influenza é que pudemos somar os dados apresentados que são os únicos do país que repre-

sentam continuidade de observação etiológica com a devida confirmação da prevalência de novas estirpes de vírus.

Alguns dados existentes em nosso meio sobre a morbidade e mortalidade da influenza não correspondem à realidade e não resistem à avaliação e análise, já que os procedimentos para sua obtenção variam com histórico obtido, os critérios diagnósticos e as fontes de informações. Ainda mais, a frequência da influenza no Brasil só é razoavelmente notada e registrada por ocasião de surtos ou epidemias.

Além de não existirem em nosso país inquéritos sorológicos programados que poderiam revelar prospectivamente as variações do número de suscetíveis e/ou imunes à infecção por determinados tipos e variantes do vírus, raros foram os realizados com o sentido de avaliar retrospectivamente a verdadeira extensão de um surto ou epidemia<sup>2,10</sup>.

Assim sendo, nossos resultados, ainda que retrospectivos, adquirem maior significado informativo pois relatam e documentam dados confirmados pelo isolamento do vírus e/ou sorologia específica.

## SUMMARY

### Influenza in São Paulo, 1976-1978

The incidence of influenza virus A and B in the human population of São Paulo City during 1976-78 was studied.

Influenza virus A showed antigenic variation during the three years of observation. In 1976 infections by a virus antigenically related to A/Victoria/3/75 (H3N2) were recorded. In 1977 the majority of isolates were similar to A/Texas/1/77 (H3N2) although viruses antigenically related to A/Victoria/3/75 (H3N2) were still present.

The return of subtype H1N1 prevalent throughout the world between 1947 and 1957 occurred in 1978. This strain showed minor antigenic drift from A/USSR/90/77 (H1N1) prevalent in other countries.

Infections by influenza B virus were detected in 1976 and 1977 but not in 1978.

## AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem ao Dr. ALAN P. KENDAL pela identificação final do vírus e a inestimável colaboração técnica de MARIA AKIKO ISHIDA e TUNEO ISHIMARU.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANRAKU, M. M.; GODOY, C. V. F.; COSTA, G. A.; KIMURA, E. M.; KAMIYAMA, M. Y. & FONSECA, M. H. M. — Circulação do vírus da influenza tipos A e B, em amostra de população infantil das cidades de São Paulo e Mogi das Cruzes. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 19: 94-98, 1977.
2. CANDEIAS, J. N. N. & PEREIRA, M. S. — The measurement by serological means of the impact of the Hong Kong/68 influenza virus on a population. *Rev. Saúde Púb. (São Paulo)* 6: 85-88, 1972.
3. HALL, C. E.; COONEY, M. K. & FOX, J. P. — The Seattle virus watch. IV — Comparative epidemiologic observations of infections with influenza A and B viruses, 1965 — 1969, in families with young children. *Amer. J. Epidemiol.* 98: 365-380, 1973.
4. KENDAL, A. P.; SCHIEBLE, J.; COONEY, M. K.; CHIN, J.; FOY, H. M. & NOBLE, G. R. — Co-circulation of two influenza A (H3N2) antigenic variants detected by virus surveillance in individual communities. *Amer. J. Epidemiol.* 108: 308-311, 1978.
5. KIM, H. W.; BRANDT, C. D.; ARROBIO, J. O.; MURPHY, B.; CHANNOCK, R. M. & PARROTT, R. H. — Influenza A and B viruses infections in infants and young children during the years 1957-76. *Amer. J. Epidemiol.* 109: 464-479, 1979.
6. MARQUES, A. N.; FREIER, M. K.; MACHADO, R. D.; GONÇALVES, G. A. & LIBERTO, M. J. — Surto de influenza "A" em crianças internadas na 5.ª enfermaria do Instituto Fernandes Figueira. *J. Ped.* 42: 30-39, 1977.
7. MASUREL, N. & MARINE, W. M. — Recycling of Asian and Hong Kong influenza A virus hemagglutinins in man. *Amer. J. Epidemiol.* 97: 44-49, 1973.
8. MELLO, W. A.; FREITAS, R. B. & PINHEIRO, F. P. — Surto de influenza A (H1N1) em Belém do Pará. *Bol. Epidemiol.* 10: 233-235, 1978.
9. MONTO, A. S. & LE KIONMEHR, F. — The Tecumseh study of respiratory illness. IX. Occurrence of influenza in the Community. *Amer. J. Epidemiol.* 102: 553-563, 1975.
10. PEREIRA, H. G.; BARUZZI, R. G. & CARVALHO, R. P. S. — Estudo dos anticorpos contra os vírus da influenza em índios do alto Xingú (Brasil Central). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13: 285-291, 1971.
11. PEREIRA, M. S.; ASSAAD, F. A. & DELON, P. J. — Influenza surveillance. *Bull. Wild. Health Org.* 56: 193-203, 1978.

12. PUBLIC HEALTH LABORATORY SERVICE. Standing Advisory Committee on influenza. Influenza surveillance 1972-1975. *J. Hyg.* 78: 223-233, 1977.
13. PYHALA, R. & VISAKORPI, R. — Influenza A (H1N1) Viruses of the 1977/78 outbreaks isolation and haemagglutination properties. *J. Hyg.* 82: 81-88, 1979.
14. ROBINSON, R. Q. & DOWDLE, W. R. — Influenza viruses. In *Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections*. Ed. E. H. Lennete & N. J. Schimdt. New York, American Public Health Association, 1969, pp. 426.
15. SCHOENBAUM, S. C.; COLEMAN, M. T.; DOWDLE, W. R. & MOSTOW, S. R. — Epidemiology of influenza in the elderly: evidence of virus recycling. *Amer. J. Epidemiol.* 103: 166-173, 1976.
16. SEVER, J. L. — Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J. Immunol.* 88: 320-329, 1962.
17. TAKIMOTO, S.; BARBOSA, H. H. G. & SALLES GOMES, L. F. — Influenza suína: frequência de anticorpos em habitantes da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 38: 71-75, 1978.
18. ZHDANOV, V. M.; LVOR, D. K.; ZAKSTELSKAYA, L. YA.; YAKHNO, M. A.; ISACHENKO, V. I.; BRANDE, N. A.; REZNIK, V. I.; PYSINA, T. V.; ANDREYER, V. P. & PODCHERNAYAEVA, R. YA. — Return of epidemic A1 (H1N1) influenza virus. *Lancet* 2: 294-295, 1978.
19. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Influenza in the world, October 1977 — September 1978. *Wkly Epidem. Rec.* 54: 25-28, 1979.
20. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Influenza in the world, October 1978 — September 1979. *Wkly Epidem. Rec.* 55: 17-20, 1980.

Recebido para publicação em 18/11/1980.