

## ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA POLIOVÍRUS EM SOROS DE RECÉM-NASCIDOS ANTES E APÓS IMUNIZAÇÃO EM MASSA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA DE ZERO A CINCO ANOS DE IDADE. SÃO PAULO, BRASIL (1980)

Rudolf Uri HUTZLER (1), Mitiko FUJITA (2), Eliseu Alves WALDMAN (3), Munir A. AYUB (4), Flávio L. FERRARI (4), Paulo R. P. PINTO (4), Paulo Cesar CURY (4), Jai S. KIM (4) e José Guido MATHEUS (4)

### R E S U M O

Foram colhidas amostras de sangue de 178 recém-nascidos (RN) em berçários de hospital localizado no Município de São Paulo. Noventa crianças foram puncionadas antes do primeiro "Dia Nacional de Vacinação Contra a Poliomielite" e as outras 88, após o segundo "Dia Nacional de Vacinação Contra a Poliomielite", realizados em 1980. Nessas campanhas foram imunizadas as crianças com idade de zero a cinco anos, em todo o Brasil. No presente trabalho pesquisou-se os títulos de anticorpos neutralizantes contra poliovírus nos dois grupos de recém-nascidos. Após a imunização em massa verificou-se que a taxa de recém-nascidos triplo suscetíveis decresceu de 8,9% para 4,5%, enquanto que o aumento observado do triplo imunes foi de 38,9% para 52,3%; essas diferenças mostraram-se estatisticamente significantes ao nível de 5,0%. A proporção de recém-nascidos, com títulos de anticorpos neutralizantes contra poliovírus iguais ou maiores do que 8, aumentou após as campanhas de imunização, quando passaram de 68,9% para 81,8%, de 73,3% para 83,0% e de 57,8% para 70,5%, respectivamente, para os sorotipos 1, 2 e 3. Essas diferenças mostraram-se estatisticamente significantes, ao nível de 5,0%, em relação aos poliovírus 1 e 3.

### I N T R O D U Ç Ã O

As imunizações em massa contra a poliomielite podem provocar infecções em contactos de vacinados<sup>3,6,7,9</sup>. Os níveis de anticorpos neutralizantes verificados fora de época de vacinação em massa, em nosso meio, em populações de recém-nascidos (RN) e de adultos, foram baixos<sup>15,17,18,19,24</sup>. As taxas de anticorpos neutralizantes em RN dependem diretamente dos títulos de anticorpos maternos, situando-se em relação aos mesmos em níveis iguais ou pouco inferiores<sup>14,21</sup>, até o momento em que são infectados. Há um número apreciável de publicações, relatando enterovirose nos neonatos<sup>4,11,16,26</sup> em berçários hospitalares<sup>5,12,22</sup>. A

duração da imunidade passivamente adquirida da mãe depende do nível de anticorpos séricos ao nascimento<sup>14</sup>.

A presente pesquisa tem por objetivo verificar os títulos de anticorpos neutralizantes contra poliomielite em RN nascidos de parto hospitalar, durante sua permanência em berçário. Essa observação foi levada a efeito em crianças nascidas antes e após as duas campanhas de vacinação em massa contra a poliomielite realizadas no Brasil, em 1980, abrangendo a população de zero a cinco anos de idade.

- (1) Professor Titular de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC  
(2) Do Instituto Adolfo Lutz  
(3) Do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da U.S.P.  
(4) Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 178 crianças com a mediana das idades de quatro dias e os extremos variando de um a 23 dias, todas elas nascidas de parto hospitalar e examinadas quando ainda internadas no berçário. A presente pesquisa foi levada a efeito na Maternidade São Paulo, localizada no Município de São Paulo, Brasil.

As colheitas das amostras, obtidas por punção venosa, foram realizadas em RN, para os quais havia indicações médicas outras para exames de sangue; cada RN foi puncionado uma única vez.

A coleta de amostras foi realizada em duas fases: na primeira, constituiu-se o **Grupo I** de 90 crianças puncionadas durante as quatro semanas consecutivas que precederam o Primeiro Dia Nacional de Vacinação Contra a Poliomielite (14 de junho de 1980) e na segunda, formouse o **Grupo II** de 88 crianças, cujas amostras de sangue foram obtidas no período compreendido entre a terceira e a sétima semana após o Segundo Dia Nacional de Vacinação Contra a Poliomielite (16 de agosto de 1980).

Após a coleta, o sangue era imediatamente enviado ao Serviço de Virologia do "Instituto Adolfo Lutz", sendo o soro sobrenadante armazenado em congelador a -20°C, até a data da realização das provas de neutralização.

### Provas de Neutralização

As provas de neutralização foram realizadas segundo a microtécnica descrita por ROSENBAUM & col., 1963<sup>20</sup>. As estirpes de referência dos tipos sorológicos de vírus de poliomielite foram poliovírus 1 (Brunhilde), poliovírus 2 (Lansing) e poliovírus 3 (Leon).

Os soros foram diluídos de 1:8 a 1:512. A dose infectante para cada tipo de poliovírus era de aproximadamente 100 TCID<sub>50</sub>. A mistura soro vírus era incubada a 37°C, por duas horas, em câmara contendo 5% de CO<sub>2</sub>. A suspensão de células LLC-MK 2 era então adicionada, deixando-se as microplacas em câmara contendo 5% de CO<sub>2</sub>, durante aproximadamente 72 horas, à temperatura de 36°C. Após esse pe-

ríodo, efetuava-se a primeira leitura, ao microscópio invertido, sendo a segunda leitura efetuada 24 horas após. Um efeito inibidor igual ou superior a 75% do efeito citopático foi considerado como positivo, indicando a presença de anticorpos.

Para efeito de análise estatística, consideramos como suscetíveis os RN com níveis séricos de anticorpos neutralizantes não detectáveis na diluição 1:8.

Os resultados foram comparados, utilizando-se os testes de qui quadrado e o de "Tendência de MANTEL"<sup>13</sup>. O nível crítico de significância pré fixado foi o de 5%.

## RESULTADOS

Os títulos de anticorpos neutralizantes para o **Grupo I** e **II**, relativamente aos poliovírus 1, 2 e 3 está referida, em separado, respectivamente nas Tabelas I, II e III. Assim, no **Grupo I** formado pelas crianças nascidas no período anterior ao Primeiro Dia Nacional de Vacinação Contra a Poliomielite, os títulos de anticorpos neutralizantes para os poliovírus 1, 2 e 3, apresentaram-se inferiores a 8 na proporção de, respectivamente, 31,1%, 26,7% e 42,2%.

TABELA I  
Títulos de anticorpos neutralizantes para poliovírus 1 nos Grupos I e II

Títulos de anticorpos neutralizantes	Grupo I		Grupo II	
	N.º	(%)	N.º	(%)
< 8	28	31,1	16	18,2
≥ 8	62	68,9	72	81,8
Total	90	100,0	88	100,0

TABELA II  
Títulos de anticorpos neutralizantes para poliovírus 2 nos Grupos I e II

Títulos de anticorpos neutralizantes	Grupo I		Grupo II	
	N.º	(%)	N.º	(%)
< 8	24	26,7	15	17,0
≥ 8	66	73,3	73	83,0
Total	90	100,0	88	100,0

No **Grupo II** essas mesmas taxas de títulos de anticorpos neutralizantes apresentaram,

HUTZLER, R. U.; FUJITA, M.; WALDMAN, E. A.; AYUB, M. A.; FERRARI, F. L.; PINTO, P. R. P.; CURY, P. C.; KIM, J. S. & MATHEUS, J. G. — Anticorpos neutralizantes contra poliovírus em soros de recém-nascidos antes e após imunização em massa da população brasileira de zero a cinco anos de idade. São Paulo, Brasil (1980). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 26:78-82, 1984.

T A B E L A III  
Títulos de anticorpos neutralizantes para poliovírus 3 nos Grupos I e II

Títulos de anticorpos neutralizantes	Grupo I		Grupo II	
	N.º	(%)	N.º	(%)
< 8	38	42,2	26	29,5
≥ 8	52	57,8	62	70,5
Total	90	100,0	88	100,0

observada a mesma ordem respectiva, as frequências de 18,2%, 17,0% e 29,5%.

Aplicando-se o teste qui quadrado aos resultados apresentados nas Tabelas I, II e III, ve-

rificou-se diferença estatisticamente significativa, ao nível de 5,0%, entre as taxas de títulos de anticorpos neutralizantes, observadas nos RN dos Grupos I e II, em relação aos poliovírus 1 e 3. Os aumentos foram de, respectivamente, 68,9% para 81,8% e de 57,8% para 70,5%. Em relação aos poliovírus 2, a diferença não foi significativa.

As proporções de triplo-ímmunes e de mono, duplo e triplo suscetíveis entre os RN pertencentes aos Grupos I e II (Tabela IV) mostraram diferença estatisticamente significativa ao nível 5,0%; o número de triplo suscetíveis decresceu de 8,9% para 4,5%, enquanto os triplo ímmunes aumentaram de 38,9% para 52,3%.

T A B E L A IV  
Imunidade para poliovírus em crianças nascidas no período que antecedeu ao primeiro Dia Nacional de Vacinação contra a Poliomielite, realizada em junho de 1980 (Grupo I) e no período que sucedeu ao segundo Dia Nacional de Vacinação contra a Poliomielite, realizado em agosto de 1980 (Grupo II)

Grupo	Triplo-ímmunes		Mono-suscetíveis		Duplo-suscetíveis		Triplo-suscetíveis		Total	
	N.º	(%)	N.º	(%)	N.º	(%)	N.º	(%)	N.º	(%)
I	35	38,9	29	32,2	18	20,0	8	8,9	90	100,0
II	46	52,3	31	35,2	7	8,0	4	4,5	88	100,0
Total	81	45,5	60	33,7	25	14,0	12	6,7	178	100,0

## DISCUSSÃO

Após a administração em massa de vacina antipoliomielítica oral trivalente, tipo Sabin, à população brasileira de zero a cinco anos, observou-se, na amostra estudada, um aumento do porcentual de RN com títulos de anticorpos séricos neutralizantes maiores ou iguais a 8. Esses porcentuais, após as duas doses vacinais, passaram de 68,9% para 81,8%, de 73,3% para 83,0% e de 57,8% para 70,5%, respectivamente, em relação aos poliovírus 1, 2 e 3 (Tabelas I, II e III). A queda do número de RN suscetíveis, consideradas as averiguações pré e pós a imunização em massa foi estatisticamente significativa, considerados os poliovírus 1 e 3.

A taxa de triplo suscetíveis baixou de 8,8% para 4,5%, enquanto a de triplo ímmunes aumentou de 38,9% para 52,3%, considerados, respectivamente, os Grupos I e II. As diferenças foram estatisticamente significantes ao nível de 5% (Tabela IV).

A avaliação da imunidade contra poliovírus nos RN, através da presença de anticorpos neutralizantes, que eles adquiriram transplacentariamente, em decorrência de infecções maternas por esses agentes, sejam eles "selvagens" ou vacinais<sup>1,8</sup>, serve para aferir a proteção que eles têm contra a poliomielite. Quando não há anticorpos neutralizantes no soro dos RN, a possibilidade que eles têm de adquirir a doença não é desprezível<sup>4,16,18,26</sup>. Nessas circunstâncias, o risco de infecção por poliovírus pelos RN deve ser considerado<sup>10</sup>, havendo propostas de imunização de RN, precocemente, ainda nos berçários<sup>2</sup>.

Por outro lado, também é conhecida a infecção de contactos de vacinados<sup>21</sup>, através da eliminação de vírus atenuados por via fecal<sup>23</sup>.

A imunização em massa da população infantil pode levar à infecção de adultos que tenham contacto com crianças vacinadas; quando se tratar de gestantes, o aumento das taxas de anticorpos neutralizantes maternos, decorrente da

infecção por vírus vacinal, determinará maior proteção do RN em relação a poliomielite<sup>25</sup>.

O aumento dos níveis de imunidade contra a poliomielite verificado nos RN do Grupo II, oriundo, possivelmente, da vacinação em massa da população de zero a cinco anos foi, apesar de significativo, insuficiente para se atingir globalmente esse grupo populacional. A porcentagem de RN com títulos de anticorpos neutralizantes menor que 8, para os poliovírus 1, 2 e 3 foi de, respectivamente, 18,2%, 17,0% e 29,5%, no grupo de RN observado após a segunda campanha de imunização.

### CONCLUSÕES

Após a imunização em massa verificou-se que a proporção de recém-nascidos triplo suscetíveis decresceu de 8,9% para 4,5%, enquanto que o aumento observado de triplo imunes foi de 38,9% para 52,3%. Esses achados foram estatisticamente significantes ao nível de 5%.

O aumento de imunes foi estatisticamente significante ao nível de 5%, em relação aos poliovírus 1 e 3, quando a proporção de recém-nascidos com títulos de anticorpos neutralizantes séricos maiores que 8 aumentou, respectivamente, de 68,9% para 81,8% e de 57,8% para 70,5%.

### SUMMARY

**Neutralizing antibodies for poliovirus in newborn children sera before and after mass immunization of Brazilian population from one to five years old, São Paulo — Brazil, 1980**

Blood samples from 178 new-born children in the nurseries of hospital located in São Paulo Municipality were examined. The samples from 90 children were obtained before "The First National Day For Poliomyelitis Vaccination" and 88 were analysed after "The Second National Day For Poliomyelitis Vaccination", both of them achieved in 1980. During these vaccination campaigns, it was observed that the number of children susceptible for three poliovirus serotypes decreased from 8.9% to 4.5%; on the other hand, there was an increase in immunized children for the three serotypes from 38.9% to 52.3%. These differences were statis-

tically significant at level of 5.0%. After mass immunization, an increase in relation to the neutralizing antibodies titres against polioviruses was observed in newborns, who presented titres equal or higher than 8. The proportion of children turned from 68.9% to 81.8%, from 73.3% to 83.0% and from 57.8% to 70.5%, respectively for serotypes 1, 2 e 3. These differences were statistically significant, at level of 5.0%, concerning to polioviruses 1 and 3.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Drs. José Maria Pacheco de Souza e Zélia Maria Oliveira Cavalcante pela colaboração na análise estatística. Agradecemos ao Prof. Dr. Paulo Schmidt Goffi e à Direção da Maternidade São Paulo a autorização para realizar esta pesquisa.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AYCOCK, W. L. & KRAMER, S. D. — Immunity to poliomyelitis in mothers and the newborn as shown by the neutralization test. *J. exper. Med.* 52: 427-464, 1930.
2. CAMPILLO-SAINZ, C.; HERNANDEZ, A.; MACÍAS, J. & NAVA, S. E. — Immunization of newborn children with living oral trivalent poliovirus vaccine. *J. Bact.* 84: 446-450, 1962.
3. CANDEIAS, J. A. N. — Isolamento e identificação intratípica de cepas de poliovírus associados com a administração de vacina Sabin. São Paulo, 1969. [Tese de Docência-Livre — Faculdade de Saúde Pública da U.S.P.].
4. CHERRY, D.; SORIANO, F. & JAHN, L. — Search for perinatal viral infection. A prospective, clinical, virologic and sorologic study. *Amer. J. Dis. Child.* 116: 245-250, 1968.
5. FARMER, K. & PATTEN, P. T. — An outbreak of Coxsackie B5 infection in a special care unit for newborn infants. *N. Z. med. J.* 68: 86-89, 1968.
6. FOX, P.; GELFAND, H. M.; LeBLANC, D. R. & CONWELL, D. P. — Studies on the development of natural immunity to poliomyelitis in Luisiana. I — Over-all plan, methods and observations as patterns of seroimmunity in the study group. *Amer. J. Hyg.* 65: 344-366, 1957.
7. GELFAND, H. M.; FOX, J. P. & LeBLANC, D. R. — Observations on natural poliovirus infections in immunized children. *Amer. J. publ. Hlth.* 47: 421-431, 1957.
8. GUASCHINO, S. — Per una protezione antipoliomielitica effettiva e precoce del lattente attraverso la vaccinoprofilassi in gravidanza. *Min. med.* 60: 1461-1464, 1969.

HUTZLER, R. U.; FUJITA, M.; WALDMAN, E. A.; AYUB, M. A.; FERRARI, F. L.; PINTO, P. R. P.; CURY, P. C.; KIM, J. S. & MATHEUS, J. G. — Anticorpos neutralizantes contra poliovírus em soros de recém-nascidos antes e após imunização em massa da população brasileira de zero a cinco anos de idade. São Paulo, Brasil (1980). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 26:78-82, 1984.

9. HORSTMANN, D. M.; PAUL, J. R.; MELNICK, J. L. & DEUTSCH, J. V. — Infection induced by oral administration of attenuated poliovirus to persons possessing homotypic antibody. *J. exper. Med.* 106: 159-177, 1957.
10. ISACSON, P.; MELNICK, J. L. & WALTON, M. — Environmental studies to endemic enteric virus infections. II — Poliovirus infections in household units. *Amer. J. Hyg.* 65: 29-42, 1957.
11. LACERDA, J. P. G.; VIEIRA, E. F. L.; MARTINS, B. S. & GIUSTI, L. S. — Isolamento e identificação de poliovírus em São Paulo de 1967 a 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 31: 21-25, 1971.
12. LAPINLEIMU, K. & HAKULINEN, A. — A hospital outbreak caused by echo virus type 11 among newborn infants. *Ann. clin. Res.* 4: 183-187, 1972.
13. MANTEL, N. — Chi square tests with one degree of freedom: extensions of the Mantel-Haenzel procedure. *J. Amer. Statist. Ass.* 58: 690-700, 1963.
14. MARTINS da SILVA, M.; PREM, K. A.; JOHNSON, E. A.; McKELVEY, J. L. & SYVERTON, J. T. — Response of pregnant-women and their infants to poliomyelitis vaccine. *J. Amer. med. Ass.* 168: 1-5, 1958.
15. MARTINS da SILVA, M. & SYVERTON, J. T. — Poliomyelitis survey in Rio de Janeiro. *Publ. Hlth. Rep.* 71: 395-398, 1956.
16. MOSCOVICI, C. & MAISEL, J. — Intestinal virus of newborn and older prematures. *Amer. J. Dis. Child.* 101: 771-777, 1961.
17. MOURA, R. A.; CAMPOS, L. G.; MARTINEZ, C. H. O.; MILANO, E. A. & PIZA, J. T. — Avaliação dos resultados de uma campanha de vacinação contra a poliomielite em São Paulo, Brasil. II — Estado imunitário da população antes da vacinação. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 22/23: 81-86, 1962/63.
18. NEVES, W. E. — Alguns aspectos da poliomielite no primeiro semestre de vida. Estudo de 241 casos. São Paulo, 1972. [Tese de Doutorado — Faculdade de Medicina da U.S.P.].
19. NIEDERMAN, J. C.; HENDERSON, J. R.; OPTON, E. M.; BLACK, F. L. & SKVRNOVA, K. — A nationwide serum survey of Brazilian military recruits, 1964. II — Antibody patterns with arboviruses, polioviruses, measles and mumps. *Amer. J. Epidem.* 86: 319-329, 1967.
20. ROSENBAUM, M. J.; PHILLIPS, I. A.; SULLIVAN, E. J.; EDWARDS, E. A. & MILLER, I. F. — A simplified method for virus tissue culture procedures in microtitration plates. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113: 224-229, 1963.
21. SABIN, A. B.; MICHAELS, R. H.; KRUGMAN, S.; EIGER, M. E.; EERMAN, P. H. & WARREN, J. — Effect of oral poliovirus vaccine in newborn children. I — Excretion of virus after ingestion of large doses of Type I or of mixture of all three types, in relation to level of placentally transmitted antibody. *Pediatrics* 31: 623-639, 1968.
22. SANDERS, D. Y. & CRAMBLETT, H. G. — Viral infections in hospitalizes neonates. *Amer. J. Dis. Child.* 116: 251-256, 1968.
23. SANGKAWIBHA, N.; TUCHINDA, P.; SAKUNTANAGA, P. & SUNTHORSARATUL, A. — Surveillance of enterovirus infections in Bangkok. I — Isolation of enterovirus from faecal specimens of healthy children. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.* 6: 3-9, 1975.
24. SILVA, N. N. — Imunidade natural à poliomielite em Porto Alegre, Brasil. *Hospital (Rio)* 58: 109-118, 1960.
25. WARREN, R. J.; LEPOW, M. L.; BARTSCH, G. E. & ROBBINS, F. C. — The relationship of maternal antibody, breast feeding, and age to the susceptibility of newborn infants to infection with attenuated polioviruses. *Pediatrics* 34: 4-13, 1964.
26. WINSSER, J.; PFAFF, M. L. & SEANOR, H. E. — Poliomyelitis viremia in a newborn infant. *Pediatrics* 20: 458-467, 1957.

Recebido para publicação em 2/2/1983.