

# ISOLAMENTO E TIPAGEM EM CULTURA DE TECIDOS, DE NOVE AMOSTRAS DE VÍRUS DE POLIOMIELITE, DE CASOS OBSERVADOS EM SÃO PAULO.

(NOTA PRELIMINAR) (\*) (\*\*)

ROBERTO DE ALMEIDA MOURA

Médico do Laboratório de Vírus Neurotrópicos da Seção de Virulogia  
do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil (Serviço do Dr. L. A.  
Ribeiro do Valle).

e

GUILLERMO CONTRERAS

Médico do Laboratório de Poliomielite da Seção de Vírus do  
Instituto Bacteriológico do Chile, Santiago, Chile (Serviço do Dr.  
R. Palacios).

Sendo a primeira vez que se faz a tipagem dos vírus causadores da poliomielite no Brasil, somos levados a apresentar esta nota preliminar.

ANGULO (1952), inoculando uma mistura de fezes de doentes de poliomielite de uma epidemia ocorrida em Bilac, Estado de São Paulo, refere ter reproduzido paralisia em *Macaca mulatta*. O exame anatomopatológico revelou a presença de alterações características de poliomielite.

Recentemente, MADUREIRA PARÁ (1955), a partir de fezes de casos de poliomielite em crianças observadas em Minas Gerais e no Rio de Janeiro, relata ter conseguido os mesmos resultados.

No entanto, apesar dessas observações terem confirmado a presença do vírus da poliomielite em nosso meio, até hoje não se conhecia quais os tipos existentes entre nós.

---

(\*) Apresentado à Sessão do Departamento de Higiene e Medicina Tropical, da Associação Paulista de Medicina, em 7.7.1955.

(\*\*) Trabalho auxiliado por um donativo do Jockey Club de São Paulo. Entregue para publicação em 27 de julho de 1955.

## MATERIAL E MÉTODOS

Empregamos a técnica de isolamento e tipagem dos vírus pólio, MELNICK (1955), em cultura de tecidos RIORDAN et al. (1952), SYVERTON et al. (1954). Usamos a célula "HeLa" de GEY (1953), mantida há vários meses em nosso laboratório, cultivada em meio de Hanks com 40% de sêro humano.

*Origem do material inoculado:* Inoculamos 13 amostras de fezes de doentes de poliomielite aguda internados na Clínica Ortopédica e Traumatológica e na Clínica de Moléstias Tropicais e Infetuosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A idade desses doentes oscilava entre 1 e 2 anos. Todos apresentavam sinais clínicos evidentes de poliomielite.

*Preparo do inóculo:* As fezes foram conservadas a  $-30^{\circ}\text{C}$  até serem manipuladas. Fizemos diluição do material fecal a 10% em solução fisiológica e centrifugamos a 2.000 r. p. m. durante 20 minutos. Centrifugamos o sobrenadante novamente a 18.000 r. p. m. durante 20 minutos. Ao novo sobrenadante juntamos 100 u. de penicilina cristalina e 100 $\gamma$  de dihidroestreptomicina por ml e deixamos durante 30 minutos à temperatura ambiente.

*Inoculação:* Inoculamos 0,2 ml do material assim preparado em cada tubo de cultura de tecido contendo 1,8 ml de meio de Hanks com 20% de sêro de cavalo. Utilizamos dois tubos para cada inóculo.

Os tubos foram examinados diariamente ao microscópio, com objetiva de pequeno aumento e anotadas as alterações morfológicas observadas. Os tubos que não apresentavam alterações eram observados por uma semana, sendo desprezados em seguida. Nesses casos, fizemos novas inoculações com o material original.

*Tipagem:* Os agentes citopatogênicos isolados foram tipados em presença de soros-padrão imunes, de coelho, tipo I (Brunhilde); tipo II (Y-SK) e tipo III (Leon).

Juntamos os vírus a serem tipados aos Soros imunes e levamos à estufa a  $37^{\circ}$  por uma hora. Depois desse período distribuímos nos respectivos tubos de cultura de tecido 0,2 ml da mistura para 1,8 ml de meio de Hanks com 20% de sêro de cavalo.

## RESULTADOS

*Isolamento:* Em 9 amostras de fezes, das 12 inoculadas, conseguimos observar alterações morfológicas que indicavam a presença de um agente citopatogênico.

Exemplos característicos das observações feitas são representadas no quadro I.

QUADRO 1

Amostra	Tubo	Observações (em horas)			
		24	48	72	96
Po-11	3448	oooo —	oooo ±	oooo +	oooo ++
	3449	oooo —	oooo ±	oooo +	oooo ++
Po-7	3586	oooo —	oooo —	oooo —	oooo ++
	3587	oooo —	oooo —	oooo —	oooo +++
Po-3	3580	oooo —	oooo +	oooo ++	oooo ++++
	3582	oooo —	oooo +	oooo +++	ooo ++++

o a oooo representa o número de células aderentes à parede do tubo.

± a ++++ representa a quantidade crescente de células degeneradas pela ação citopatogênica do agente isolado.

*Tipagem:* Das amostras de vírus isoladas, 6 pertencem ao tipo I (amostras Po-6, Po-9, Po-11, Po-12 e Po-15), 1 pertence ao tipo II (amostra Po-7) e 2 ao tipo III (amostras Po-3 e Po-10).

De cada um dos três tipos tomamos um exemplo, que são reproduzidos no quadro II. Para melhor compreensão escolhemos os mesmos casos já representados no quadro I.

*Conclusão:* Os resultados obtidos evidenciam a presença dos três tipos de vírus pólio em nosso meio, existência essa até o presente trabalho não verificada.

*Resumo:* Os autores tipam, pela primeira vez, de casos observados no Brasil, nove amostras de vírus de poliomielite, a saber: 6 do tipo I, 1 do tipo II e 2 do tipo III. Nesse trabalho foi utilizada a técnica de cultura de tecidos, empregando a célula "HeLa" de Gey.

QUADRO 2

Virus	Diluição	Soro	Diluição	Tubo	Observações (em horas)		
					24	48	72
Po-11	1/2	I	1/20	3708	oooo -	oooo -	oooo -
				3709	oooo -	oooo -	oooo -
		II	1/6	3710	oooo +	oooo +++++	ooo +++++
				3711	oooo +	oooo +++++	ooo +++++
		III	1/6	3717	oooo +	oooo +++++	oo +++++
				3718	oooo +	oooo +++++	oo +++++
Houve completa proteção pelo soro tipo I: vírus Po-11 pertence ao tipo I							
Po-7	1/2	I	1/20	3674	oooo -	oooo ++	oooo +++
				3678	oooo -	oooo +++++	oooo +++++
		II	1/6	3683	oooo -	oooo +	oooo +
				3684	oooo -	oooo -	oooo -
		III	1/6	3685	oooo -	oooo +++++	oooo +++++
				3686	oooo -	oooo +++++	oooo +++++
Houve proteção significativa pelo soro tipo II: vírus Po-7 pertence ao tipo II							
Po-3	1/2	I	1/20	3630	oooo +++++	ooo +++++	o +++++
				3631	oooo +++++	ooo +++++	o +++++
		II	1/6	3634	oooo +++++	ooo +++++	ooo +++++
				3635	oooo +++++	ooo +++++	ooo +++++
		III	1/6	3636	oooo -	oooo +	oooo +++
				3638	oooo -	oooo +	oooo ++
Houve proteção significativa pelo soro tipo III: vírus Po-3 pertence ao tipo III							

## SUMMARY

By the first time, 9 samples of polioviruses were isolated and typed from acute paralytic cases occurred in São Paulo, Brazil. 6 of them belong to type I, 1 to type II and 2 to type III.

## BIBLIOGRAFIA

- ANGULO, J. — Comunicação pessoal.
- MADUREIRA PARÁ, J. — 1955 — Estudos e controle da poliomielite (paralisia infantil) e a vacina Salk. O problema no Brasil. Limitadas pesquisas no Instituto Oswaldo Cruz e suas causas. Medicina, Cirurgia e Farmácia n. 229: 193-202.
- MELNICK, J. L. — 1955 — Antigenic crossings within poliovirus types. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89 (1): 131-133.
- RIORDAN, J. T., N. LEDINKO & J. L. MELNICK — 1952 — Multiplication of poliomyelitis viruses in tissue cultures of monkey testes. II. Direct isolation and typing of strains from human stools and spinal cords in roller tubes. — Am. J. Hyg., 55: 339-346.
- SYVERTON, J. T., W. F. SCHERER & P. M. ELWOOD — 1954 — Studies on the propagation *in vitro* of poliomyelitis viruses. V. The application of the strain HeLa human epithelial cells for isolation and typing. J. Lab. Clin. Med. 43: 286-301.
- SHERER W. F., J. T. SYVERTON & G. O. GEY — 1953 — Studies on the propagation *in vitro* of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. J. Exp. Med., 97: 695-710.
- WELLER, T. H., J. F. ENDERS, F. C. ROBBINS & M. B. STODDARD — 1952 — Studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture. I. The propagation of poliomyelitis viruses in suspended cell cultures of various human tissues — J. Immunol. 69: 645-671.