

## ISOLAMENTO DO POLIOVÍRUS A PARTIR DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE CRIANÇAS COM POLIOMIELENITE \*

José Paulo Gonzaga de LACERDA \*\*  
Elza Franco de Lima VIEIRA \*\*  
Bienvenido Sáez MARTIN \*\*  
Lúcia Souto GIUSTI \*\*  
José SOARES SOBR.º \*\*\*

RIAL-A/382

LACERDA, J.P.G.; VIEIRA, E.F.L.; MARTIN, B.S.; GIUSTI, L.S. & SOARES SOBR.º, J. — Isolamento do poliovírus a partir do líquido cefalorraquidiano de crianças com poliomielite. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33: 29-33, 1973.

RESUMO: É apresentado o resultado da pesquisa de poliovírus em casos de meningite concomitante com paralisia ou paresia. Foram estudados materiais de 193 crianças com isolamento do poliovírus do tipo I, de 172; do tipo II, de um caso e, do tipo III, de 10 casos. Verificou-se a ocorrência de maior número de casos nos dois primeiros anos de vida, com sensível diminuição em crianças de maior idade. Foram isoladas 16 amostras do poliovírus de líquido cefalorraquidiano.

DESCRIPTORIOS: líquido cefalorraquidiano; poliovírus, isolamento e tipagem; poliomielite; fezes; soro-neutralização.

### INTRODUÇÃO

A invasão dos vírus da poliomielite no sistema nervoso central, após a fase de viremia, foi estudada experimentalmente por BODIAN<sup>1,2</sup>, em 1955 e 1956; SABIN<sup>3</sup>, em 1956 e HORSTMANN<sup>4</sup>, em 1957, em chimpanzés e macacos.

Amostras de poliovírus isoladas de tecido nervoso, e portanto com mais afinidade para estes tecidos, foram utilizadas por SABIN<sup>3</sup>, em 1956 e NATHANSON & BODIAN<sup>5</sup>, em 1962, em estudos experimentais, com o intuito de esclarecer o mecanismo de invasão das partículas virais no sistema nervoso central.

O isolamento do poliovírus do líquido cefalorraquidiano não é freqüente, segundo

SMITH<sup>10</sup> (1962), sendo comum o isolamento de vírus Coxsackie do grupo B e alguns Echovírus (BODIAN & HORSTMANN<sup>3</sup>, 1965).

Pesquisas recentes nos Estados Unidos da América do Norte, segundo GARBER *et alii*<sup>11</sup> (1970), em um surto de meningite foram isoladas amostras de vírus Echo e Coxsackie de diferentes tipos, mas não de poliovírus.

Na França, LABRUNE *et alii*<sup>6</sup>, em 1971, estudaram 61 casos de meningite com isolamentos de Echovírus tipo 30, de 27 casos, e de pólio tipo I, de apenas 1 caso.

No presente trabalho, relatamos os resultados das tentativas de isolamento de poliovírus em 193 pacientes de poliomielite, com paralisia ou paresia e que apresentavam sinais e sintomas de infecção das meninges,

\* Realizado na Seção de Vírus Respiratórios e Entéricos do Instituto Adolfo Lutz, S.P.

\*\* Da Seção de Vírus Respiratórios e Entéricos do Instituto Adolfo Lutz.

## MATERIAL E MÉTODOS

De 1969 a 1971, entre os pacientes internados com poliomielite na Clínica de Paralisia Infantil do Hospital das Clínicas de São Paulo, colhemos material de 193 crianças com idade entre 3 meses e 4 anos, com sinais de infecção das meninges. De todos os pacientes internados nesta Clínica especializada, são colhidas de rotina amostras de material fecal e sangue, para tentativa de isolamento de vírus e dosagem de anticorpos. Dos 193 casos já referidos, também foi colhido líquido cefalorraquidiano para tentativa de isolamento de vírus.

Os pacientes escolhidos para estudo procediam ou da Capital ou de várias localidades do interior do Estado e foram internados para tratamento na clínica já referida.

### Colheita e estocagem do material

*Líquido cefalorraquidiano* — Colhido em tubo estéril e transportado imediatamente para o Laboratório onde permaneceu congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento da inoculação em células.

*Swab retal* — Colhidas duas amostras com 24 horas de intervalo e conservadas no Laboratório a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o momento do preparo do inóculo.

*Soro* — Colhidas duas amostras de sangue, a primeira logo após internamento no Hospital e a segunda de 12 a 15 dias depois da primeira amostra. O soro, separado do

coágulo, ficou congelado a  $-30^{\circ}\text{C}$  até o momento de sua utilização nas provas sorológicas.

Para o isolamento e identificação do vírus, foram utilizadas células de linhagem contínua HeLa, Av<sub>2</sub> e Hep<sub>2</sub>. A técnica empregada foi a já descrita por nós (LACERDA *et alii*<sup>7</sup>).

Para o isolamento do vírus do líquido cefalorraquidiano, adicionamos 0,8-1,0 ml da amostra, in natura, por tubo de células sem meio. Após o contato de 5 horas em estufa a  $36,5-37^{\circ}\text{C}$ , o líquido foi removido e substituído por 1 ml de meio de Hanks manutenção.

## RESULTADOS

Das amostras de fezes das 193 crianças com sinais e sintomas meningeanos, foram isolados poliovírus de 167, correspondendo a 86,5% de isolamentos.

Em 15 casos, foram isolados poliovírus tipo I das fezes e do líquido cefalorraquidiano; somente em um caso foi isolado o poliovírus tipo III, também das fezes e do líquido cefalorraquidiano, correspondendo estes 16 casos a 8% dos isolamentos conjuntos, no total de casos estudados.

Em 10 casos, não foi possível o isolamento de poliovírus, seja das fezes ou do líquido cefalorraquidiano.

O total de casos com isolamento de poliovírus corresponde a 95%.

Esta exposição está detalhada na tabela 1, onde consta o número de casos por ano.

TABELA 1  
 Número de isolamentos de poliovírus por ano

N.º de casos	Anos			Total
	1969	1970	1971	
Isolamento de fezes e do líquido cefalorraquidiano	2	4	10	16
Isolamento só de fezes	6	17	144	167
Sem isolamento	0	1	9	10
Total	8	22	163	193

TABELA 2

*Número de amostras de poliovírus isoladas por ano*

Tipos de Poliovírus	A n o s						Total
	1969		1970		1971		
	LCR *	Fezes	LCR	Fezes	LCR	Fezes	
I	1	6	4	20	10	146	187
II	0	1	0	0	0	0	1
III	1	1	0	1	0	8	11
Total	2	8	4	21	10	154	199

\* LCR = líquido cefalorraquidiano

O poliovírus tipo I foi isolado de 171 pacientes, sendo 156 isolamentos de material fecal e 15 isolamentos tanto de material fecal como de líquido cefalorraquidiano.

Amostras de poliovírus tipo III foram isoladas de 10 pacientes a partir de fezes, com um único isolamento do líquido cefalorraquidiano, que foi confirmado pela reinoculação de material.

Poliovírus tipo II foi isolado de material fecal, apenas uma vez.

A distribuição anual dos isolamentos e tipos de vírus pode ser observada na tabela 2, bem como o número de amostras isoladas do líquido cefalorraquidiano e fezes.

A idade das crianças no presente estudo variou de 3 meses a 4 anos, com um número maior de casos nos dois primeiros anos de vida, conforme apresentamos na tabela 3. Ressaltamos que, de 28 pacientes, não foi possível saber a idade, por falhas nos registros e fichas.

A reação de soro-neutralização realizada nas duas amostras de soro de cada paciente mostrou que, em 65% dos casos, o título já era alto na primeira amostra, não variando na segunda, ou apenas dobrando. Assim, encontramos muitos casos com título de 1:1024 em ambas as amostras ou de 1:512 na primeira e 1:1024 na segunda amostra.

TABELA 3

*Número de isolamentos de poliovírus de acordo com a idade das crianças*

Idade anos	Isolamentos n.º
0 a 1	78
1 a 2	70
2 a 3	13
3 a 4	4
Total	165

Em um caso, de uma criança com 10 meses, isolamos poliovírus tipo I do líquido cefalorraquidiano e das fezes, verificando aumento do título, na soro-neutralização, igual a 8 vezes. Na primeira amostra, o título foi de 1:128 e, na segunda, de 1:1024.

Mais um caso merece ser citado, o de uma criança com isolamento de poliovírus do líquido cefalorraquidiano e das fezes, sem o conseqüente aparecimento de anticorpos neutralizantes no sangue, pois o título em ambas as amostras foi igual a 1:8.

Entre os casos sem isolamento de poliovírus, merece ser citado o de uma criança de 2 anos de idade, com aumento de título, na soro-neutralização para polio tipo I, de

16 vezes; o título que na primeira amostra foi igual a 1:32 passou para 1:512, na segunda.

#### DISCUSSÃO

No presente estudo, procuramos isolar poliovírus de líquido cefalorraquidiano de pacientes de poliomielite com sinais de infecção das meninges. Em 8% dos casos, isolamos poliovírus do líquido cefalorraquidiano, apesar de algumas dificuldades que não puderam ser superadas. Os casos estudados eram todos de poliomielite e isolamos poliovírus de material fecal em 95%. Em aproximadamente 80% dos casos, a quantidade de líquido cefalorraquidiano colhida não foi suficiente para inoculação de grandes quantidades nos tubos de culturas celulares para o isolamento do vírus (ver material e métodos). Em outros casos, o material, por ser bastante alcalino, prejudicava as células e estas entravam em degeneração, sem ser possível o crescimento do vírus, mesmo com passagens do material em outros tubos de culturas celulares.

Em um número reduzido de casos, havia quantidade suficiente de material para inoculação e reinoculação em células, visando o isolamento do vírus. Em outros, o material esgotou-se sem que fosse possível obter-se o crescimento do vírus, mesmo utilizando maior volume de inóculo nas passagens. Apesar desses fatos, justificamos a presente publicação pela frequência de isolamentos de poliovírus com a inoculação direta de líquido cefalorraquidiano em sistemas celulares sensíveis. A utilização do método de concentração do material em centrifugas de alta rotação aumenta a possibilidade de isolamentos, embora seja bastante trabalhoso. Nos nossos materiais, por serem exíguos, não houve a possibilidade de empregarmos este último método.

#### Agradecimentos

Agredecemos a colaboração do Dr. Paulo Afonso P. Saraiva e da Dra. Wanda Eugenia Neves, da Clínica de Paralisia Infantil do Hospital das Clínicas de São Paulo, no envio do material dos pacientes lá internados, o que nos proporcionou a realização do presente estudo.

RIAL-A/382

---

LACERDA, J.P.G.; VIEIRA, E.F.L.; MARTIN, B.S.; GIUSTI, L.S. & SOARES SOBR.<sup>o</sup> J. — Isolation of poliovirus obtained from cerebrospinal fluid of children with poliomyelitis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **33**: 29-33, 1973.

SUMMARY: The results of the isolation of poliovirus obtained from the cerebrospinal fluid of 193 children with poliomyelitis and presenting meningitis symptomatology are described.

In 16 out of 183 cases where poliovirus had been previously isolated from feces, poliovirus from cerebrospinal fluid were also isolated.

DESCRIPTORS: cerebrospinal fluid; poliovirus, isolation and serotyping; poliomyelitis; feces; neutralization test.

---

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BODIAN, D. — Emerging concept of poliomyelitis infection. *Science*, *N. Y.*, **122**: 105-8, 1955.
2. BODIAN, D. — Poliovirus in chimpanzee tissues after virus feeding. *Am. J. Hyg.*, **64**: 181-97, 1956.

LACERDA, J.P.G.; VIEIRA, E.F.L.; MARTIN, B.S.; GIUSTI, L.S. & SOARES SOBR.<sup>o</sup>, J.  
— Isolamento do poliovirus a partir do líquido cefalorraquidiano de crianças com poliomi-  
elíte. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **33**: 29-33, 1973.

---

3. BODIAN, D. & HORSTMANN, D.M. — Polioviruses. In: HORSFALL Jr., F. L. & TAMM, I., ed. — *Viral and rickettsial infections of man*. 4th ed. Philadelphia, Lippincott, c1965. p. 430-73.
4. GARBER, H.J.; GLICK, T.H.; JOSEPH, J.M.; DUPONT, H. & EICHLER, S. — Aseptic meningitis epidemic involving ECHO 4 and coxsackie B5 viruses. *Publ. Hlth Rep., Wash.*, **85**: 59-65, 1970.
5. HORSTMAN, D.M. — Poliomyelitis: problems in pathogenesis and immunization. *Yale J. Biol. Med.*, **30**: 81-100, 1957.
6. LABRUNE, B.; DAEMERS, G.; BONISOL, C.; RIBIERRE, M. & MALLETT, R. — Méníngites a virus ECHO-30 chez l'enfant. *Presse Méd.*, **79**: 45-7, 1971.
7. LACERDA, J.P.G.; VIEIRA, E.F.L.; MARTIN, B.S. & GIUSTI, L.S. — Isolamento e identificação de poliovirus em São Paulo de 1967 a 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **31**: 21-5, 1971.
8. NATHANSON, N. & BODIAN, D. — Experimental poliomyelitis following intramuscular virus injection. III. The effect of passive antibody on paralysis and viremia. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **111**: 198-220, 1962.
9. SABIN, A.B. — Pathogenesis of poliomyelitis. Reappraisal in the light of new data. *Science, N.Y.*, **123**: 1151-7, 1956.
10. SMITH, L. — Isolation of poliovirus from spinal fluid. *J. Lab. clin. Med.*, **59**: 490-5, 1962.

*Recebido para publicação em 31 de maio de 1973.*

