

ANTICORPOS ANTIPOLISSACARÍDEO C DE *NEISSERIA MENINGITIDIS*: DETECÇÃO ATRAVÉS DA HEMAGLUTINAÇÃO PASSIVA EM SOROS DE PACIENTES E DE VACINADOS *

Augusta Kiyomi TAKEDA**
Augusto de E. TAUNAY**
Luiz G. P. SCALABRINI**
Ivan de Oliveira de CASTRO***

RIAL-A/408

TAKEDA, A. K.; TAUNAY, A. E.; SCALABRINI, L. G. P. & CASTRO, I. O.
— Anticorpos anti-polissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*: detecção através da hemaglutinação passiva em soros de pacientes e de vacinados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 127-133, 1974.

RESUMO: Foi utilizada a reação de hemaglutinação passiva para avaliar a resposta humoral antipolissacarídica C em dois grupos populacionais, na região da Grande São Paulo, S.P. e em um grupo em Ipatinga, M.G., Brasil, após a vacinação com a vacina anti-meningocócica, grupo C. A mesma técnica também foi usada para pesquisa de anticorpos da mesma natureza em pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de meningite meningocócica, a fim de avaliar sua especificidade como método diagnóstico. Os resultados obtidos autorizam o emprego dessa técnica como método seguro e específico.

DESCRITORES: *Neisseria meningitidis*, grupo C; hemaglutinação passiva, no diagnóstico da meningite meningocócica; meningite, meningocócica.

INTRODUÇÃO

A pesquisa de anticorpo antipolissacarídeo pela reação de hemaglutinação passiva com hemácias sensibilizadas foi introduzida por SANBORN & VEDROS⁵.

Apesar de a sensibilidade dessa reação ser menor do que a do ensaio radioimune, sua especificidade nunca foi contestada.

Sendo uma técnica de fácil execução,

foi estudada a sua aplicabilidade, na avaliação da vacina anti-meningocócica do grupo C, a dois grupos populacionais da região da Grande São Paulo, S.P. e a um grupo em Ipatinga, M.G. Também foi pesquisado o desenvolvimento de anticorpos da mesma natureza em pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de meningite meningocócica, a fim de avaliar sua especificidade como método diagnóstico.

* Trabalho realizado na Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S. P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Hospital Emilio Ribas, São Paulo, S. P.

MATERIAL E MÉTODOS

Vacina utilizada

Polissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupo C*.

Amostras

Foram estudados soros de quatro grupos populacionais:

Grupo 1 - 98 crianças normais, de 6 meses a 3 anos de idade, vacinadas com 50 µg. Foram colhidas 2 amostras: uma, antes, e outra 30 dias após a vacinação.

Grupo 2 - 77 jovens entre 13 a 17 anos de idade, do sexo masculino, de uma Instituição escolar parcialmente fechada, vacinados com 100 µg. Foram colhidas 3 amostras: uma, antes da vacinação, duas outras, após 30 e 90 dias da vacinação.

Grupo 3 - 150 indivíduos normais de 1 a 20 anos de idade, vacinados com 50 µg. Foram colhidas 3 amostras: uma, antes da vacinação, e duas outras, a 14 e 30 dias a partir da data da vacinação.

Grupo 4 - 279 crianças de 6 meses a 3 anos de idade, internadas no Hospital Emílio Ribas, São Paulo, S. P., com meningite meningocócica. Foram colhidas 3 amostras: a primeira, na internação; a segunda, por ocasião da alta e a terceira, trinta dias após a alta.

Antígenos

Foram empregados na ocasião dois antígenos:

1.º — A vacina polissacarídeo do grupo C*.

2.º — Polissacarídeo do grupo C extraído de *Neisseria meningitidis*** do grupo C.

Sensibilização das hemácias

Lavar 6 ml de suspensão a 10% de hemácias humanas "O", Rh negativo, três vezes em solução salina tamponada (NaCl-0,15 M; fosfatos — 0,01 M), pH 7,2, centrifugar a 3.000 rpm durante 10 minutos. Dividir o sedimento em dois lotes. Ao primeiro, adicionar 2 ml de antígeno, ao segundo, adicionar 2 ml de solução salina tamponada (NaCl-0,15 M, fosfatos-0,01 M), pH 6,9, para controle da reação. Inocular em banho-maria a 37°C, durante 30 minutos.

Lavar as duas suspensões em solução salina tamponada pH 6,9. Ressuspender o sedimento a 4 ml da mesma solução salina à qual se adicionou 0,5% de soroalbumina bovina.

Determinação da concentração ótima sensibilizante do antígeno

Determinada por meio de titulação em bloco, variando-se as concentrações dos antígenos que foram estabelecidos por dosagem química, pelo método de Svennerholm⁶ para ácido siálico. Para 0,024 ml de papa de hemácias, a concentração do polissacarídeo utilizado variou de 1 — 3 µg/ml para o antígeno por nós preparado e de 3,5 — 7 µg/ml quando foi utilizada a vacina.

Técnica da reação

Em placas de hemaglutinação*: adicionar 50 µl de solução salina tamponada (NaCl - 0,15 M, fosfatos - 0,01 M), pH 6,9, adicionada de 0,5% de soroalbumina bovina,

* Meningococcus group C vaccine, Merck Sharp & Dohme Research Labs., New Jersey and West Point, Pa., E. U. A.

** Amostra C-1054, proveniente do Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, E. U. A.

* Microtiter, Cook Engineering Company, E. U. A.

a todos os orifícios. Em seguida, adicionar 50 μ l de cada novo soro em duplicata e, com alças diluidoras, proceder a diluições sucessivas, de razão 2, de todos os soros.

Distribuir na primeira linha correspondente a cada soro 50 μ l de hemácias

sensibilizadas e, na segunda linha, 50 μ l de hemácias não sensibilizadas, como controle.

Incubar as placas em câmara úmida, a temperatura ambiente, por 3 horas. Leitura, para verificação ou não de aglutinação, como demonstrado na fig. 1:

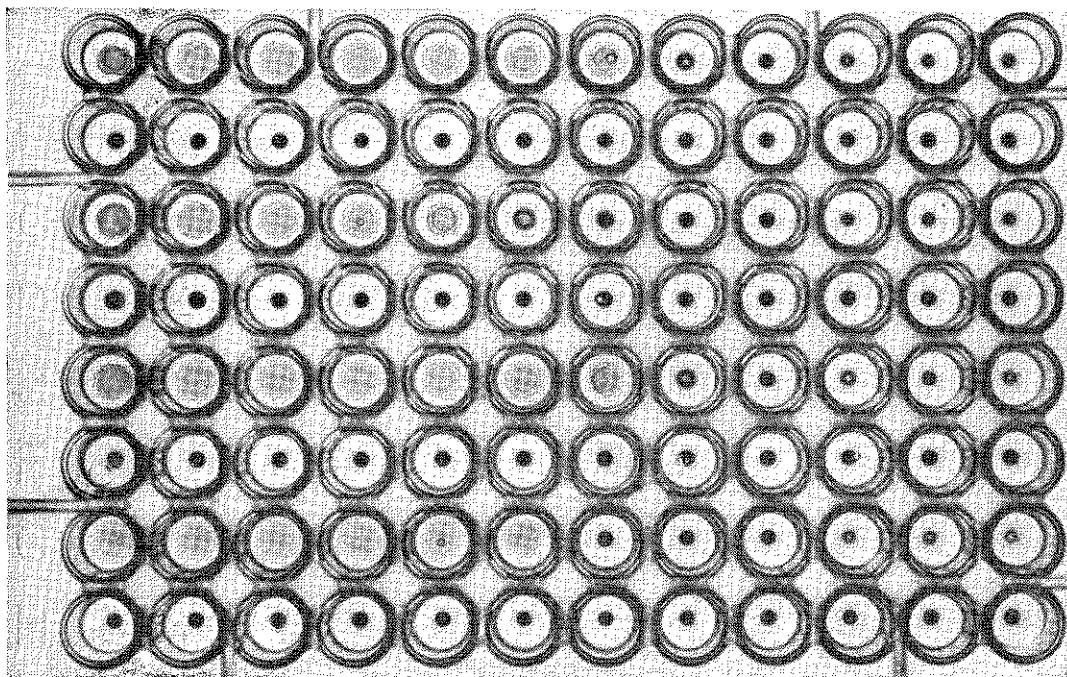


Fig. 1 — Placa demonstrativa da reação de hemaglutinação passiva.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

A figura 2 mostra a variação de títulos em crianças vacinadas pertencentes ao primeiro grupo. Neste grupo praticamente não houve conversão de títulos.

No grupo de 13 a 17 anos (fig. 3), após 30 dias da vacinação, verificou-se conversão sorológica em 95% dos indivíduos. Já, na amostra colhida 90 dias após a vacinação, em 27% não foi possível mostrar a presença de anticorpos no sangue, mostrando

serem estes anticorpos de natureza fugaz. Estes resultados permitem concluir que, na dose empregada para essa população, a vacina mostrou-se capaz de induzir à formação de anticorpos.

O terceiro grupo, cuja idade variou de 1 a 20 anos, como mostra a tabela 1, confirma os dados anteriores, ou seja, na faixa etária de 1 a 3 anos, 4,35% converteram o título, enquanto que, na faixa de 20 anos, 88,9% converteram o título.

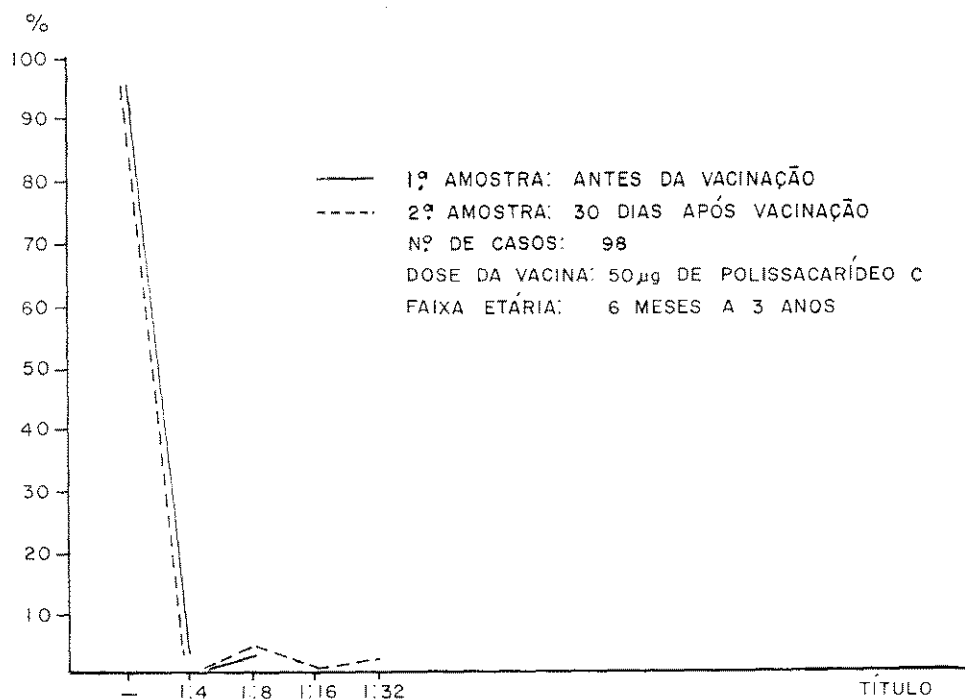


Fig. 2 — Detecção de anticorpos contra polissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*, através da reação de hemaglutinação passiva. Grupo 1.

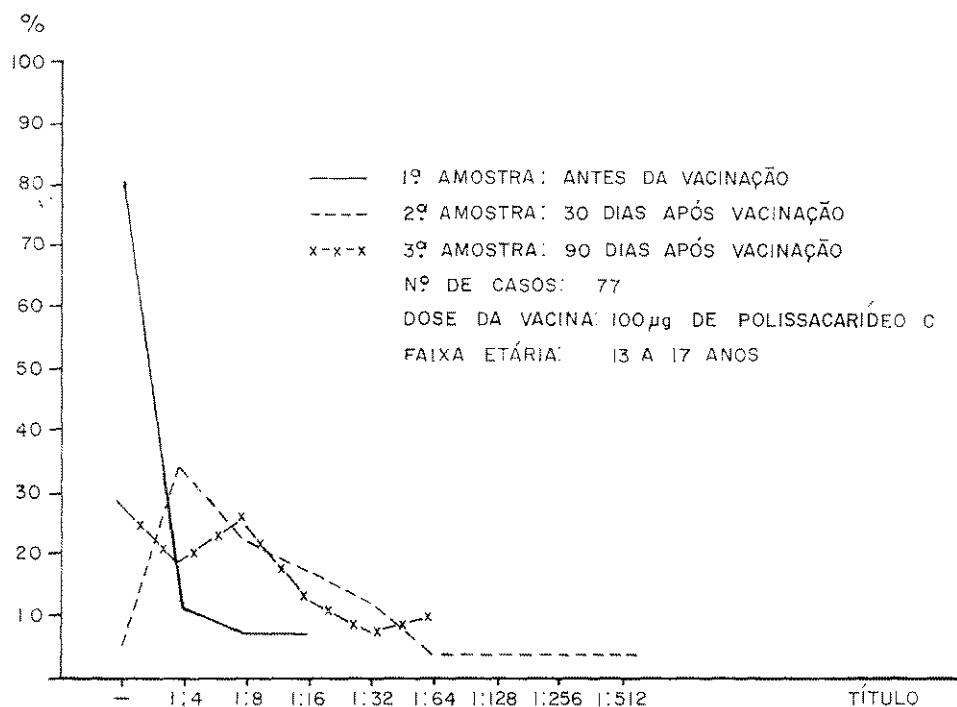


Fig. 3 — Detecção de anticorpos contra polissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*, através da reação de hemaglutinação passiva. Grupo 2.

TABELA 1 -

Avaliação da resposta à vacina polissacarídica C em diferentes faixas etárias, em Ipatinga, M. G.

Títulos	Faixa etária (anos)					
	1 — 3	4 — 5	6 — 10	11 — 15	16 — 19	20
S/conversão	22 (95,65%)	15 (78,95%)	23 (74,20%)	10 (43,48%)	7 (31,82%)	2 (11,10%)
C/conversão	1 (4,35%)	4 (21,05%)	8 (25,80%)	13 (56,52%)	15 (68,18%)	16 (88,90%)
Total	23	19	31	23	22	18

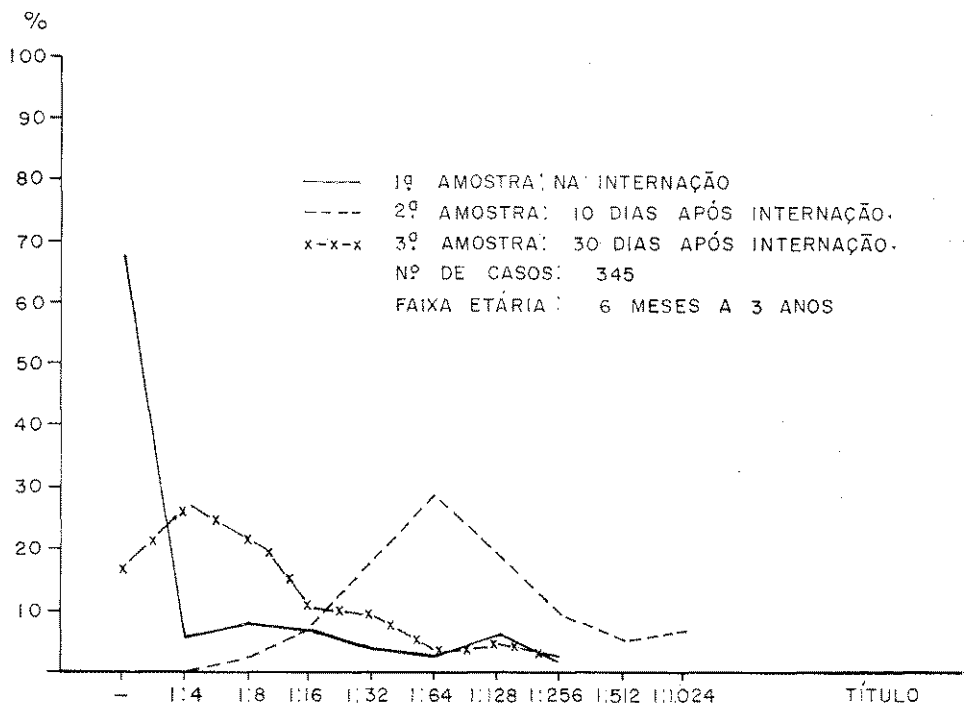


Fig. 4 — Detecção de anticorpos contra polissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*, através da reação de hemaglutinação passiva. Grupo 3.

No quarto grupo (fig. 4) procurou-se verificar se nas meningites de provável etiologia bacteriana e especificamente meningocócica apareciam anticorpos contra o polissacarídeo C, uma vez que no grupo vacinado da mesma faixa etária a conversão de título variou em proporções muito

baixas (fig. 2). Por esta figura podemos verificar que houve 100% de conversão de títulos após 10 dias da internação e que, após 30 dias, 18% desses indivíduos se tornaram negativos, o que vem a confirmar a natureza fugaz destes anticorpos.

TABELA 2

Especificidade da reação de hemaglutinação passiva para Neisseria meningitidis, grupo C.

N.º de Casos	Bacterioscopia	Cultura	IEC	Conversão de títulos no soro %
194	+	+	+	100
151	-	-	-	36,5
21*	-	-	-	0

IEC = imunoelectroforese cruzada

+ = positivo

- = negativo

* = positivo para outra etiologia que não a meningocócica.

Por esta tabela, sempre que o exame bacterioscópico, a cultura e a pesquisa do polissacarídeo no líquido foram positivos, a conversão de títulos na reação de hemaglutinação também o foi. Quando a bacterioscopia, a cultura e a pesquisa de polissacarídeo no líquido foram negativas, houve 36,5% de conversão de títulos. Com relação a infecções meningéas de outra etiologia, não houve desenvolvimento de anticorpos específicos ou, se presentes, não houve conversão de títulos nas reações subsequentes.

O fato de se obterem 36,5% de resultados positivos com conversão sorológica, sendo os demais exames negativos, leva a acreditar ser este método mais sensível que os outros empregados, uma vez que em todos os casos a sintomatologia clínica e o exame químico-citológico do líquido indicavam tratar-se de infecção bacteriana das meninges que, no caso presente, foi inti-

tulada como sendo infecção meningocócica do grupo C.

Diante desses resultados, conclui-se que a vacina induz à formação de anticorpos específicos, de preferência nos grupos etários acima de 3 anos. A ausência da resposta para grupos etários abaixo de 3 anos poderia ser justificada pela incapacidade de resposta frente ao antígeno polissacarídico, por ter-se usado uma dose insuficiente, ou pela falta de contacto anterior desta população com o agente infeccioso.

A reação de hemaglutinação com hemáceas sensibilizadas com polissacarídeo extraído da *N. meningitidis* do grupo C, mostrou-se excelente método de diagnóstico de grande auxílio no esclarecimento de casos em que falharam os métodos usuais de diagnóstico da doença meningocócica.

RIAL-A/408

TAKEDA, A. K.; TAUNAY, A. E.; SCALABRINI, L. G. P. & CASTRO, I. O. — Antibodies against polysaccharide C of *Neisseria meningitidis*: detection through passive haemagglutination in sera from patients and vaccinated normal persons. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 127-133, 1974.

SUMMARY: Passive hamagglutinating reaction was used to evaluate the humoral immune response against polysaccharide C of two populational groups, one of the São Paulo metropolitan area and another of Ipatinga, M. G., both in Brazil, after vaccination with anti-group C meningococcal vaccine. Same techic was used to detect the same type of antibodies in patients wich clinical and laboratory diagnosis of meningococcal meningitis, in order to evaluate its specificity as a diagnosis method. The results confirmed the specificity of this reaction.

DESCRIPTORS: *Neisseria meningitidis*, serogroup C; passive haemagglutination in meningococccic meningitis, diagnostic method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COHEN, R. L. & ARTENSTEIN, M. S. — Hemagglutination inhibition for serogroups of *Neisseria meningitidis*. *Appl. Microbiol.*, 23: 289-92, 1972.
2. EDWARDS, E. A. & DRISCOLL, W. S. — Group specific hemagglutination test for *Neisseria meningitidis* antibodies. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 126: 876-79, 1967.
3. HAMMOND, B. W.; KINGSBURY, D. T. & WEISS, E. — Modification of meningococcal polysaccharide antigens for use in passive hemagglutination tests. *J. Immun.*, 101: 808-9, 1968.
4. HUNTLEY, B. & REED, D. — An indirect hemagglutination test for group B meningococcus. *Am. J. Epidem.*, 86: 142-8, 1967.
5. SANBORN, W. R. & VEDROS, N. A. — Possibilities of application of complement fixation, indirect hemagglutination and fluorescent antibody test to epidemiology of meningococcal infection. *Hiith Lab. Sci.*, 3: 111-7, 1966.
6. SVENNERHOLM, L. — Quantitative estimation of sialic acids. II. A colorimetric resorcinol — hydrochloric acid method. *Biochim. Biophys. Acta*, 24: 604-11, 1957.

Recebido para publicação em 7 de outubro de 1974.