

PESQUISA DE ANTICORPOS FIXADORES DE COMPLEMENTO PARA VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL EM GRUPOS DA POPULAÇÃO DO TERRITÓRIO FEDERAL DO AMAPÁ, BRASIL

José Alberto N. CANDEIAS (1)
Dacio de Almeida CHRISTOVÃO (2)

RESUMO

Foram pesquisados anticorpos contra o vírus respiratório sincicial, através de reação de fixação do complemento, em grupos de soros de habitantes de Serra do Navio, no Território Federal do Amapá. O primeiro grupo compreendia soros, obtidos em 1963, de 396 indivíduos (74,02% da população de idade de 5 - 19 anos). Revelou 22,7% de positivos e aumento da taxa de positividade de 18,6 no grupo etário de 5-19 a 33,7 no de 15-19 anos. O segundo grupo constituía-se dos soros de 147 indivíduos do primeiro grupo, sangrados duas vezes, em fevereiro e julho de 1963. O exame evidenciou, por aumento de título de pelo menos 4 vezes, ter ocorrido nesta amostra, neste período, pelo menos 23 casos de infecção pelo vírus RS, ou seja, no mínimo, uma incidência de 16,8%. O terceiro grupo era de 58 indivíduos de 22-49 anos, sangrados em 1965; 75,8% dos seus soros foram positivos e nêles também se demonstraria aumento da positividade com a idade. Os resultados evidenciam larga disseminação do vírus RS entre a população de localidade situada a apenas 1ºLN, em clareira aberta na selva amazônica.

INTRODUÇÃO

O trabalho de Morris, Blount e Savage²⁰ foi o primeiro a levantar uma suspeita sobre a possibilidade de que o então chamado «agente da coriza dos chimpanzés» (CCA), fôsse um vírus de origem humana. Estendendo suas investigações a diversos grupos humanos, constituídos principalmente por adolescentes e adultos jovens, verificaram nos soros dos mesmos a existência de anticorpos capazes de neutralizar o efeito citopático do referido agente. Chanock e colaboradores⁷ isolaram de crianças com broncopneumo-

nia, bronquiolite e laringotraqueobronquite duas cepas de vírus semelhantes ao CCA, tanto em relação ao efeito citopático, como às propriedades antigênicas. Ocasionalmente em culturas de células KB um efeito citopático típico com formação de grandes áreas sinciciais, tal como já tinha sido observado para o vírus do sarampo^{11,9}, caxumba¹⁴ e para o vírus associado ao «croup»⁴, muito embora todos estes vírus fôssem antigênicamente diferentes daquelas cepas. Posteriormente, Chanock e Finberg⁵ propuzeram que o CCA e aquelas cepas fôssem considerados como um só vírus que passaria a designar-se por vírus respiratório sincicial ou vírus RS.

Começava, assim, a suspeitar-se da natureza etiológica de certos quadros respiratórios em crianças^{3 1 2 7 18 19 22 8 24 16 25} fazendo-a recair sobre o vírus RS. Trabalhos mais recentes^{15 16 21} mostram que o

Recebido para publicação em 5-4-1966.
Trabalho da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Dacio de Almeida Christovão) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP.

(1) Instrutor da Cadeira.

(2) Professor Catedrático da Cadeira.

vírus RS é o agente etiológico de maior importância nos quadros respiratórios agudos, devidos a vírus, de crianças de idade inferior a oito anos de idade e que em grupos etários mais elevados existe uma alta percentagem de soros contendo anticorpos contra este vírus. Torna-se oportuno verificar o que se passa, em relação ao vírus RS, em grupos populacionais do Brasil, o que determinou a realização deste estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

População estudada — Foram pesquisados anticorpos contra o vírus respiratório sincicial, através de reação de fixação de complemento, em grupos da população da localidade de Serra do Navio, no Território Federal do Amapá. A localidade situa-se em clareira aberta em plena selva amazônica, a 1 grau de latitude norte, a 200 km a NO da Cidade de Macapá, capital do Território Federal. As temperaturas máxima e mínima do ano variam entre 23°C às 7 horas e 34°C às 16 horas, mas na maior parte do tempo a oscilação habitual é entre 22°C e 30°C. A umidade é muito elevada, oscilando em torno de 85 a 90 por cento¹².

A população de Serra do Navio constitui-se exclusivamente do pessoal administrativo e operários — bem como de seus respectivos familiares — da Indústria e Comércio de Minérios S. A. - ICO-MI, empresa que explora os minérios de manganês da região.

Esta população em dezembro de 1963 era de 2.191 pessoas. Compreendia apenas 2% de nascidos em outros países. Do total de brasileiros, 86% são amapaenses e paraenses, em partes quase iguais. Os restantes são 8% de nordestinos e 6% das demais regiões do país. Quarenta e quatro por cento da população têm menos de 15 anos e 23%, menos de 5 anos¹².

A maior parte das amostras de sangue examinadas foi colhida em fevereiro e julho de 1963 e provinha de crianças e adolescentes de idade entre 5 e 19 anos. São ainda objeto de estudo amostras de

sangue de 58 indivíduos de idade superior a 21 anos, colhidas em agosto de 1965.

Soros examinados — Da totalidade de amostras colhidas em 1963 somente aproveitamos os soros de 396 indivíduos, que representam 74,02% da população acima mencionada. Dêstes indivíduos, 147 foram sangrados em fevereiro e da totalidade obtiveram-se amostras de sangue em julho. Como alguns indivíduos foram sangrados duas vezes, aproveitamos esta oportunidade para estudar uma amostra de 147 indivíduos, cada um deles com dois soros, obtidos com intervalo de 5 meses. Esta última amostra, correspondente a 27,4% daquela população, foi usada para determinar o número de infecções ocasionadas pelo vírus RS, ocorridas naquela época. Todos êstes soros foram conservados a -60°C até o momento do exame.

Os soros das amostras colhidas em 1965 foram mantidos em geladeira a 4-6°C.

Tôdas as provas de fixação de complemento foram realizadas em setembro de 1965.

Vírus padrão — Usou-se a cepa Long de vírus RS cedida pelo Dr. Robert J. Huebner, dos National Institutes of Health, Bethesda, U.S.A., com as seguintes passagens em cultura de células: KB/6, Chang L/2 e Hep 2/2.

Cultura de células — Células Hep 2 foram cultivadas em tubos e garrafas de Roux, usando-se como meio de crescimento o meio de Hanks com 20% de sôro de vitelo, 5% de lactalbumina e 0,05% de «Yeastolate»; usou-se para manutenção e preparo do antígeno o mesmo meio sem sôro de vitelo. Todos os meios foram adicionados de 100 U de penicilina e 100 microgramas de estreptomina por ml.

Antígeno — Para o preparo do antígeno fixador de complemento usaram-se culturas de células Hep 2 em garrafas de Roux com uma concentração de 350.000 células por ml, inoculadas com uma se-

mente de vírus RS contendo 10^5 DCF₅₀ por ml, na proporção de 0,05 ml de semente para cada ml de meio de manutenção.

Ao fim de 72 horas, quando o ECP era quase total, o conteúdo das garrafas foi congelado a -60°C e descongelado por 3 vezes e centrifugado a 1.800 RPM durante 20 minutos. O sobrenadante foi titulado para dosagem de antígeno fixador de complemento, tendo sido usadas na reação 4 unidades por 0,1 ml.

Técnica de fixação de complemento

— Os sôros, após descongelamento em água fria corrente se conservados a -60°C e depois de inativados a 56°C durante 30 minutos, foram examinados segundo a técnica descrita por Hamre¹³. O título de anticorpos fixadores de complemento corresponde à recíproca da maior diluição de sôro onde há pelo menos 50% de fixação do complemento.

Em vista da elevada proporção de soros anticomplementares encontrada entre aqueles mantidos a -60°C , todos os soros conservados deste modo foram tratados para destruição de anticomplementaridade, segundo o método de Sachs, com modificações. Cada amostra de sôro foi diluída a 1:2 em tampão de veronal e aquecida em banho-maria a 56°C durante cinco minutos, depois do que se adicionaram 0,4 ml de ácido clorídrico N/30 para cada 0,5 ml de sôro diluído, sendo a mistura mantida à temperatura ambiente por 30 minutos. Seguiu-se uma centrifugação a 2.000 RPM durante 10 minutos, aproveitando-se todo o sobrenadante que foi neutralizado com 0,1 ml de cloreto de sódio a 10%, pH = 9. Em virtude da necessidade deste tratamento o título mínimo de anticorpos fixadores de complemento que se pôde pesquisar foi de 8.

As amostras de sôro obtidas em 1965 foram examinadas sem tratamento da anticomplementaridade. Para uniformidade de apresentação de resultados, o título mínimo de anticorpos determinado neste grupo foi também de 8.

O critério adotado para se julgar da ocorrência de infecção pelo vírus RS entre os 147 indivíduos sangrados duas ve-

zes, foi o encontro de anticorpos na segunda amostra de sôro em título, no mínimo, quatro vezes maior. Não se tendo evidenciado a presença de anticorpos em título inferior a 8, daí decorre que nos casos negativos na primeira amostra não se poderá afirmar a ocorrência de infecção senão naqueles que apresentaram título no mínimo igual a 16 na segunda amostra.

RESULTADOS

A Tabela I apresenta a distribuição, por idade, dos soros das amostras de sangue colhidas em 1963, o número de positivos na prova de fixação de complemento para o vírus RS em cada idade e a respectiva percentagem de positividade.

Dos 396 sôros examinados — que representavam 74,02% da população de 5 a 19 anos da localidade de Serra do Navio — 86, ou 21,7%, evidenciaram a presença de anticorpos contra o vírus RS em título igual ou maior que 8. Verifica-se elevação da positividade com o aumento da idade, tendo-se encontrado 18,8% de positivos no grupo de 5-9 anos, 21,0% no de 10-14 e 33,9% no de 15 a 19 anos.

Na Tabela II apresenta-se a distribuição de anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS segundo o título e a idade. Pode verificar-se que, do total examinado, 77,3% foram negativos na diluição 1:8 e que, dos positivos, 7,8% o foram somente até o título 8, 7,7% até o título 16, 4,4% até o de 32, 2,3% até o de 64 e que apenas 0,5% alcançaram o título 128.

Ainda na Tabela II, considerando-se os títulos inferiores, 8 e 16, de um lado, e, do outro, os superiores, 32 ou mais, e comparando-se as percentagens encontradas nestes grupos em função dos três grupos etários estabelecidos, pode verificar-se que, de modo geral, há, com a idade, aumento da percentagem de positividade nos títulos inferiores e diminuição da mesma nos títulos superiores. A área correspondente ao grupo etário de 10-14 anos e aos títulos 16 e 32 constituiria a zona de transição do fenômeno observa-

TABELA I

Distribuição de anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS, segundo a idade, na localidade de Serra do Navio, T. F. Amapá, em 1963.

Idade (anos)	N.º de pessoas examinadas	Positivos		
		N.º	%	
5 — 9	5	47	10	21,2
	6	45	7	15,5
	7	45	9	20,0
	8	43	8	18,6
	9	33	6	18,2
Sub-total		213	40	18,8
10 — 14	10	39	6	15,8
	11	27	5	18,5
	12	26	6	23,1
	13	19	5	26,3
	14	13	4	30,7
Sub-total		124	26	21,0
15 — 19	15	12	3	25,0
	16	10	3	30,0
	17	12	4	33,3
	18	19	6	31,5
	19	6	4	66,6
Sub-total		59	20	33,9
Total Geral		396	86	21,7

TABELA II

Distribuição de anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS, segundo título e idade, na localidade de Serra do Navio, T. F. Amapá, em 1963.

Idade (anos)	Título de anticorpos fixadores de complemento												Total de pessoas examinadas							
	< 8*			8			16			32			64			128			N.º	%
	N.º	%		N.º	%		N.º	%		N.º	%		N.º	%		N.º	%			
5 — 9	173	81,4		11	5,1		13	6,1		8	3,7		6	2,8		2	0,9		213	100
10 — 14	98	79,2		11	8,8		6	4,8		6	4,8		3	2,4		0	0		124	100
15 — 19	39	66,3		9	15,2		9	15,2		2	3,3		0	0		0	0		59	100
Total de pessoas examinadas	310	77,3		31	7,8		28	7,7		16	4,4		9	2,3		2	0,5		396	100

* — A menor diluição de soro examinada foi 1:8.

do, sujeita, por isso mesmo, a maior variação.

A comparação entre os resultados dos dois sôros de cada um dos 147 indivíduos sangrados duas vezes é apresentada na Tabela III, na qual os títulos obtidos nas segundas amostras encontram-se distribuídos de acôrdo com os títulos originais das primeiras. Em 109 dos 147 indivíduos com sôro da primeira sangria negativo na diluição 1:8 revelou-se igual resultado no segundo sôro, de 5 meses mais tarde; em 7 observou-se resultado positivo em título 8 e em 21 se verificou a presença de anticorpos em título de 16 a 64. Pelo menos êstes 21 casos, 15,3% do grupo considerado, podem ser tidos, sem dúvida, como casos de infecção ocorridos na época estudada.

Dos 8 indivíduos com título de 8 no primeiro sôro, 1 apresentou título igual no segundo; 5 foram positivos na diluição 1:16 e 2 revelaram título de 32. Pelo menos êstes dois últimos também representam casos de infecção.

Assim, entre as 147 pessoas estuda-

das através do exame de dois soros, correspondentes às amostras de sangue obtidas em fevereiro e julho de 1963, ocorreram, pelo menos, 23 casos nítidos de infecção pelo vírus RS, numa proporção de 16,8%, ou seja em um de cada seis indivíduos.

Na Tabela IV apresentam-se os resultados encontrados no grupo de 22 a 49 anos de idade, cujas amostras de sangue foram obtidas em agosto de 1965. Dada a sua idade, nenhum dos 58 indivíduos examinados, pertencentes a êste grupo, poderia ter participado dos grupos sangrados em 1963. Verifica-se a elevada percentagem, 75,8, de adultos com anticorpos contra o vírus RS. A observação das percentagens de soros positivos encontradas nos 4 grupos etários estabelecidos, com intervalo de 7 anos cada, pareceria sugerir aumento continuado da positividade com a idade, já verificado no grupo de 5-19 anos. Pelo menos, dentro da amplitude de idade estudada.

A distribuição dos anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS se-

TABELA III

Resultados da prova de fixação de complemento realizada em 147 indivíduos de 5-19 anos, sangrados duas vezes, em Fevereiro e Julho de 1963, residentes na localidade de Serra do Navio, T. F. Amapá.

Títulos em Fevereiro	Títulos em Julho						Total de pessoas examinadas
	< 8*	8	16	32	64	128	
< 8*	109	7	9	7	5	0	137
8	0	1	5	2	0	0	8
16	0	0	0	1	0	0	1
32	0	0	1	0	0	0	1
64	0	0	0	0	0	0	0
128	0	0	0	0	0	0	0
Total de pessoas examinadas	109	8	15	10	5	0	147

* — A menor diluição de sôro examinada foi 1:8.

TABELA IV

Distribuição de anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS, segundo a idade, na localidade de Serra do Navio, T. F. Amapá, em 1965.

Idade (anos)	N.º de pessoas examinadas	Positivos	
		N.º	%
22 — 28	24	18	75,0
29 — 35	20	13	65,0
36 — 42	8	7	87,5
43 — 49	6	6	100,0
Total	58	44	75,8

gundo o título e idade, dentro deste grupo de adultos, é apresentada na Tabela V. Encontraram-se 24,2% de sôros negativos na diluição 1:8, 17,2% de positivos em título 8, 36,2% com título 16, 17,2% com título 32 e somente 5,2% de positivos na diluição 1:64. A frequência maior de positividade parece ocorrer no título de 16.

Comparando-se os títulos encontrados neste grupo com o que foi revelado no grupo de 5 a 19 anos (Tabela II), pode-se verificar que enquanto entre as crianças e adolescentes se encontraram 15,5% de positivos nos títulos inferiores — 8 e 16 — e 7,2% nos superiores — 32 ou mais — entre os adultos revelaram-se positivos nestes dois grupos de títulos, respectivamente, 53,4 e 22,4% dos indivíduos.

DISCUSSÃO

A presença de anticorpos contra o vírus respiratório sincicial foi evidenciada em 21,7% dos sôros provenientes das amostras de sangue, colhidas em 1963, de 74,02% das crianças e adolescentes, de idade de 5 a 19 anos, da localidade de Serra do Navio. Demonstra-se, assim, grande disseminação deste vírus — tão

prevalente em países da zona temperada setentrional — entre a população de localidade situada em clareira aberta em plena selva amazônica, a apenas um grau de latitude norte.

No grupo de 147 indivíduos, também de idade de 5 a 19 anos, sangrados duas vezes — em fevereiro e julho do mesmo ano de 1963 — pôde-se evidenciar a ocorrência, no espaço de tempo considerado, de pelo menos 23 casos de infecção pelo vírus RS. Ou seja, em 16,8% dos componentes do grupo.

O critério adotado para se julgar da ocorrência de infecção foi o encontro de anticorpos na segunda amostra de sôro em título, no mínimo, quatro vezes maior que o da primeira. Não tendo sido possível evidenciar-se a presença de anticorpos em título inferior a 8, daí decorreu que nos casos negativos na primeira amostra não se pôde afirmar a ocorrência de infecção senão naqueles que apresentaram título no mínimo igual a 16 por ocasião da segunda sangria. No entanto, se os sôros negativos na primeira amostra fossem realmente negativos em qualquer título ou se fossem positivos apenas na diluição 1:2, um título mínimo de 8 na segunda amostra já teria sido indicativo

TABELA V
Distribuição de anticorpos fixadores de complemento para o vírus RS, segundo título e idade, na localidade de Serra do Navio, T. F. Amapá, em 1965.

Idade (anos)	Título de anticorpos fixadores de complemento												Total de pessoas examinadas	
	< 8*		8		16		32		64		128			
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
22 — 28	6	25,0	7	29,3	4	16,6	4	16,6	3	12,5	0	0	24	100
29 — 35	7	35,0	1	5,0	11	55,0	1	5,0	0	0	0	0	20	100
36 — 42	1	12,5	2	25,0	1	12,5	4	50,0	0	0	0	0	8	100
43 — 49	0	0	0	0	5	83,6	1	16,4	0	0	0	0	6	100
Total de pessoas examinadas	14	24,2	10	17,2	21	36,2	10	17,2	3	5,2	0	0	58	100

* — A menor diluição de soro examinada foi 1:8.

de infecção, dentro do critério adotado. Houve 7 casos nestas condições. Se fôssem incluídos, teríamos total de 30, correspondentes a 20,4% dos indivíduos do grupo.

Surpreendeu-se, de qualquer modo, ocorrência, no período considerado, de elevada incidência de infecções pelo vírus RS nos grupos populacionais estudados. Os resultados globais, encontrados no total dos 396 indivíduos examinados, refletem, assim, situação decorrente de larga exposição recente da população a este vírus.

Os resultados obtidos pelo exame dos 58 sôros dos indivíduos de 22 a 49 anos, sangrados em agosto de 1965, confirmam a larga disseminação do vírus RS entre os habitantes de Serra do Navio, já evidenciada através dos sôros de 1963 das crianças e adolescentes. É de notar-se a elevada percentagem de positividade, 75,8 evidenciada.

A análise da distribuição dos resultados pelos grupos etários estabelecidos demonstraria elevação nítida da taxa de positividade com a idade, pelo menos dentro dos limites estudados em cada um dos dois anos, 1963 e 1965.

De maneira geral, as percentagens de sôros com anticorpos contra o vírus respiratório sincicial encontradas nos grupos populacionais de Serra do Navio aproximam-se muito das reveladas através de inquéritos sorológicos realizados de 1961 para cá em grupos de indivíduos dos Estados Unidos e de países da Europa. Os resultados destas investigações podem ser encontrados sumarizados no trabalho recente de Doggett¹⁰ sobre a distribuição geográfica de anticorpos contra este vírus, no qual a autora apresenta os seus próprios achados referentes a grupos de sôros, variando de 12 a 21 e num total de 233, provenientes de 15 países diferentes. Únicamente se poderia notar nos grupos etários inferiores, ora investigados, taxas de positividade menores que as mais comumente demonstradas em países da zona temperada setentrional.

Os resultados obtidos em Serra do

Navio também são semelhantes, no que se refere a grupos etários superiores, aos evidenciados por Pereira, Bruno-Lobo & Pereira²³, em 1961, em sôros de 224 doentes não selecionados da cidade do Rio de Janeiro. Difeririam porém em relação aos indivíduos de 5-19 anos de idade que, no Rio de Janeiro, apresentaram taxas bem mais elevadas. Releva notar, no entanto, como o fazem os próprios autores, o número relativamente pequeno de sôros examinados em cada grupo etário.

Uma última consideração deveria ser feita, relativa à possibilidade dos resultados, demonstrados por inquéritos sorológicos de frequência de anticorpos contra o vírus RS, não serem devidos somente a anticorpos específicos, mas poderem ter sido influenciados por infecções prévias recentes pelo vírus do sarampo, como sugerido por Jensen¹⁷ e discutido por Doggett¹⁰. Julgamos tal possibilidade, no caso presente, completamente afastada no que se refere ao número evidenciado de casos de infecção ocorridos entre fevereiro e julho de 1963 e muito remota em relação a todos os outros dados ora apresentados. A razão para tal reside nos fatos de não haver sido registrado nenhum caso de sarampo entre a população estudada no ano de 1962 e da ocorrência de epidemia desta doença em 1963, a partir do final do mês de julho, quando já haviam sido obtidas as amostras de sangue respectivas, referidas neste trabalho. Neste surto, foram diagnosticados 6 casos de sarampo em julho e mais 311 nos quatro meses seguintes*.

CONCLUSÕES

- a) Entre crianças e adolescentes, de 5 a 19 anos de idade, sangrados em 1963, e adultos, de 22 a 49 anos, sangrados em 1965, todos habitantes da localidade de Serra do Navio, evidenciou-se elevada frequência de anticorpos contra o vírus respiratório sinci-

(*) Estas informações sobre a incidência de casos de sarampo foram obtidas através dos relatórios internos da Divisão de Saúde da «Indústria e Comércio de Minérios S. A. — ICOMI».

cial. As respectivas taxas de positividade foram 22,7 e 75,8%.

- b) As percentagens de positividade encontradas nos grupos etários estabelecidos indicam aumento da frequência de anticorpos com a idade.
- c) Surpreendeu-se a ocorrência, em período de cerca de 5 meses, de pelo menos 23 casos de infecção pelo vírus RS, entre 147 indivíduos, de 5-19 anos, sangrados duas vezes, em fevereiro e julho de 1963, o que corresponde à considerável taxa de 16,8%.
- d) Foi demonstrada larga disseminação do vírus RS entre a população de localidade situada a apenas um grau de latitude norte, em clareira da selva amazônica.

SUMMARY

Groups of sera from inhabitants of the locality of Serra do Navio, in the Federal Territory of Amapá (Brazil), were examined for complement fixing antibodies for syncytial respiratory virus. The first group comprised sera collected in 1963 from 396 persons (74.02% of the 5-19 year old population). The results showed 22.7% positive at titers equal to or greater than 8. The percentage of positive sera increased from 18.6 in the 5-9 years of age group to 33.7 in the 15-19 year old group. The second group was composed of sera of 147 individuals belonging to the first one and from which blood was drawn twice, in February and July of 1963. It was revealed by, at least, a 4-fold elevation of the antibody titer, that among them, in this period of time, there were, at least, 23 cases of RS virus infection, an incidence, at least, of 16.8%. The third group comprised 58 22-49 year old individuals, whose blood was collected in 1965; 75.8% of their sera was positive at titers equal to or greater than 8 and the results, also in this group, suggested an increase of positivity with age. These findings show a wide dissemination of RS virus infection in a population of a locality situated in a clearing in the Amazon jungle, at 1° Northern latitude.

AGRADECIMENTOS

As amostras de sangue de 1963 da população de Serra do Navio foram obtidas pelo Dr. Ary W. Schmid, Professor-Associado da Cátedra de Epidemiologia, que nos enviou os respectivos soros para dosagem de antiestreptolisina O, como parte de trabalho — levado a efeito com a colaboração da Cátedra de Microbiologia e Imunologia Aplicadas — sobre estreptococcias na referida população, cujos resultados serão publicados brevemente. As amostras de sangue de 1965 da mesma população representam parte das amostras obtidas para dosagem de anticorpos contra *Salmonella typhosa*, realizada, em nossos laboratórios, como triagem para a pesquisa de portadores desta bactéria. Devem ser ressaltadas e agradecidas, em ambos os casos, a eficiente colaboração da Divisão de Saúde da «Indústria e Comércio de Minérios S. A. — ICOMI» bem como a prestímosa cooperação da população local.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, J. M., IMAGAWA, D. T. & ZIKE, K. — Epidemic bronchiolitis and pneumonitis related to respiratory syncytial virus. *JAMA*, 176(12):1037-1039, 1961.
2. ——— Relationship of pneumonitis in infants to respiratory syncytial virus. *J. Lancet*, 81 (12): 502-506, 1961.
3. BEEM, M. et alii. — Association of chimpanzee coryza agent with acute respiratory disease in children. *New Engl. J. Med.*, 263 (11):523-530, 1960.
4. CHANOCK, R. M. — Association of a new type of cytopathogenic myxovirus with infantile croup. *J. exp. Med.*, 104(4):555-575, 1956.
5. ——— & FINBERG, L. — Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). *Amer. J. Hyg.*, 66(3):291-300, 1957.
6. ———, et alii. — Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). *Amer. J. Hyg.*, 66(3):281-290, 1957.
7. ——— Respiratory syncytial virus. I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory diseases in children. *JAMA*, 176 (8):647-653, 1961.

8. CHANOCK, R. M. et alii. — Acute respiratory diseases of viral etiology: respiratory syncytial virus. *Am. J. publ. Hlth.*, 52 (6) : 918-925, 1962.
9. DEKKING, F. & McCARTHY, K. — Propagation of measles virus in human carcinoma cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 93 (1) :1-2, 1956.
10. DOGGET, J. E. — Antibodies to respiratory syncytial virus in human sera from different regions of the world. *Bull. Wld Hlth Org.*, 32(6) :849-853, 1965.
11. ENDERS, J. F. & PEEBLES, T. C. — Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 86(2) :277-286, 1954.
12. GUSMÃO, H. H. — Hospital-Centro de Saúde como unidade sanitária de um programa integrado de saúde para uma comunidade industrial em zona remota. (Trabalho apresentado ao III Congresso Nacional de Hospitais, realizado em São Paulo, de 2 a 9 de julho de 1961).
13. HAMRE, D. — Respiratory syncytial virus (in Lemette, E. H. & Schmidt, N. J., ed. Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. 3rd. ed. New York, American Public Health Association, 1964. p. 517-527).
14. HENLE, G. et alii. — Cytolytic effects of mumps virus in tissue cultures of epithelial cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 87(2) : 386-393, 1954.
15. HILLEMANN, M. R. et alii. — Acute respiratory illness among children and adults. *JAMA*, 180(6) :445-453, 1962.
16. HORNSLETH, A. & VOLKERT, M. — The incidence of complement-fixing antibodies to the respiratory syncytial virus in sera from Danish population groups aged 0-19 years. *Acta path. microbiol. scand.*, 62(3) : 421-431, 1964.
17. JENSEN, K. citado por DOGGET, J. E.¹⁰
18. JOHNSON, K. M. et alii. — Respiratory syncytial virus. IV. Correlation of virus shedding, serologic response, and illness in adult volunteers. *JAMA*, 176(8) :663-667 1961.
19. KRAVETZ, H. M. et alii. — Respiratory syncytial virus. III. Production of illness and clinical observations in adult volunteers. *JAMA*, 176(8) :657-663, 1961.
20. MORRIS, J. A. et alii. — Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 92 (3) :544-549, 1956.
21. MOSS, P. D., ADAMS, M. O. & TOBIN, J. — Serological studies with respiratory syncytial virus. *Lancet*, 1(7276) :298-300, 1963.
22. PARROTT, R. H. et alii. — Respiratory syncytial virus. II. Serologic studies over a 34-month period of children with bronchiolitis, pneumonia, and minor respiratory diseases. *JAMA*, 176(8) :653-657, 1961.
23. PEREIRA, M. S., BRUNO-LOBO, G. S. & PEREIRA, H. G. — Inquérito sorológico sobre a incidência de certas viroses respiratórias no Rio de Janeiro. *An. Microbiol.*, 9(pt. C) :567-589, 1961.
24. SANDIFORD, B. R. & SPENCER, B. — Respiratory syncytial virus in epidemic bronchiolitis of infants. *Brit. med. J.*, 2(5309) : 881-882, 1962.
25. WULFF, H. K. P. & WENNER, A. — Respiratory syncytial virus: observations on antigenic heterogeneity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 115(1) :240-243, 1964.