

O GRUPO MIXOVÍRUS: CONCEITUAÇÃO ATUAL

Cid Vieira Franco de GODOY, Elfried KIRCHNER e Octávio Augusto de Carvalho PEREIRA

RESUMO

Apresentam os Autores, sucintamente, o conceito atual de Mixovírus, apontando as principais características do Grupo. Destacam dois dos vírus mais recentemente incluídos entre os Mixovírus: o do sarampo e o da raiva, segundo LÉPINE¹⁴ e LWOFF e LÉPINE & ATANASIU¹⁵, respectivamente. Citam ainda a recente inclusão dos agentes da Rinderpest, Cinomose, Febre Africana dos suínos e Vírus Respiratório Sincicial, aprovada pelo Subcomitê Internacional de Nomenclatura em 1963 (HIRST¹¹).

O presente trabalho não pretende ser uma revisão completa do assunto.

Em 1953, a Conferência Internacional de Microbiologia, através do Comitê Internacional de Nomenclatura, introduziu certas normas referentes à classificação e nomenclatura dos vírus. Foi proposto reunirem-se em grupos maiores, os vírus com propriedades bioquímicas e biofísicas afins, mantendo-se como norma taxonômica o nome do Grupo acrescido do sufixo vírus.

ANDREWES & col.³, descreveram como integrantes do grupo mixovírus, agentes com as seguintes características morfológicas, físicas e químicas: a) constituição ácido-nucleica representada por ácido ribonucleico; b) simetria interna helicoidal; c) presença de membrana envolvente; d) afinidade pela mucina, com conseqüente adsorção à superfície de glóbulos vermelhos de aves e outros vertebrados, produzindo o fenômeno da hemaglutinação. Incluíram então esses Autores, como componentes do grupo, os seguintes vírus: *Myxovirus Influenzae A*, *M. Influenzae B*, *M. Influenzae C*, *M. Multiforme* e *M. Parotidites*, sendo mais comumente conhecidos pela terminologia de vírus Influenza A, B e C, vírus da moléstia de Newcastle e vírus da parotidite epidêmica ou caxumba,

já que as denominações binominais são pouco empregadas em virologia.

Atualmente, classificam-se os mixovírus em 4 subgrupos principais: Influenza, Parainfluenza, Caxumba e Newcastle.

Os vírus Influenza são de 3 tipos: A, B e C, sendo que o tipo A se apresenta sob forma de 4 entidades diferentes: A humano, A suíno, A equino e A aviário, possuindo tôdas em comum, um antígeno fixador de complemento solúvel. O vírus Influenza A humano apresenta ainda 3 variantes antigênicas ou subtipos: o tipo A clássico com prevalência de 1933 a 1946, o tipo Alou A primo que prevaleceu de 1947 a 1957, e o tipo Asiático ou A2 predominando desde 1957.

O vírus da caxumba e da moléstia de Newcastle apresentam somente um tipo principal. Já os vírus Parainfluenza apresentam 6 tipos antigênicamente distintos: o vírus Parainfluenza 1, também conhecido como vírus hemadsorvente 2, o vírus Parainfluenza 2, ou vírus associado ao crupe, o vírus Parainfluenza 3 também chamado vírus hemadsorvente 1⁴, o vírus Parainfluenza 4 e o vírus Parainfluenza 5, também conhecido co-

Assistentes do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Diretor: Prof. C. S. Lacaz) e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, Brasil

mo vírus Sendai. Êste, embora relacionado antigênicamente ao tipo 1, possui outras propriedades diferentes que justificam, segundo ZHDANOV²², sua inclusão como tipo à parte. O vírus hemadsorvente de macaco, conhecido como SV5, é o vírus Parainfluenza tipo 6^{5, 9}.

WATERSON, em 1962²⁰, propôs duas divisões principais dos mixovírus, o complexo dos vírus da Influenza representando a 1ª divisão e o vírus da caxumba, moléstia de Newcastle e Parainfluenza, constituindo a 2ª divisão. Os vírus da 2ª divisão estão relacionados antigênicamente entre si mas não ao complexo dos vírus da Influenza. Apresentam outras propriedades em comum que os diferenciam dos vírus da Influenza como a produção de hemólise e formação de células gigantes em culturas de tecido. Outras características fundamentais que separam essas duas divisões são a morfologia e a dimensão da estrutura interna helicoidal: na 1ª divisão, a da Influenza, essa estrutura tem um diâmetro de 90 A e se apresenta muito compacta; já na 2ª divisão, da caxumba — Newcastle — Parainfluenza ou grandes mixovírus, o diâmetro é duas vezes maior, em torno de 180 A e a estrutura, menos densa, apresenta estriação intercalada¹⁷.

Atualmente LÉPINE & LWOFF¹⁴ incluem no grupo dos mixovírus, além dos vírus já descritos, o vírus do sarampo. A natureza do ácido nucléico do vírus do sarampo, embora não irrefutavelmente confirmada, parece ser ribonucléica²¹. As imagens eletrônicas obtidas por WATERSON do vírus do sarampo revelam: 1.º) uma membrana externa com projeções radiais muito semelhantes às que contêm neuraminidase nos vírus da Influenza e constituídas, também aqui, provavelmente, pela hemaglutinina viral. A parte basal da membrana, facilmente destruída por éter e clorofórmio é de natureza lipoprotéica; 2.º) uma estrutura interna helicoidal de natureza ribonucléica, que parece ser responsável pela atividade fixadora do complemento e atividade hemolítica, sendo homóloga ao antígeno "S" da Influenza.

Vemos, pois, que de maneira semelhante aos mixovírus, o vírus do sarampo é sensível ao éter e possui aglutinina ativa sobre hemácias de certos animais, principalmente de diversas espécies de macaco¹⁸.

O vírus do sarampo enquadra-se, segundo os Autores citados¹², no subgrupo dos grandes mixovírus, isto é, no subgrupo caxumba — Newcastle — Parainfluenza, pois possui, como êstes, grandes dimensões e provoca nas culturas celulares formação de células gigantes multinucleadas. O sarampo, como a Parainfluenza 3, produz simultaneamente inclusões celulares citoplasmáticas e intranucleares.

Estudos recentes sobre o vírus da raiva¹⁴ tiveram grande incremento principalmente devido à obtenção da cultura do agente em sistemas celulares por ATANASIU & col.⁷, que conseguiram cultivá-lo em células primárias de rim de "hamster" e em células de linhagem diplóide BHK Cl₁₃, o que possibilitou a análise pormenorizada de sua estrutura morfológica. Os mesmos Autores obtiveram ainda o isolamento do vírus rábico a partir de material infetado representado por cérebro ou glândula salivar de cão, revelando-se particularmente sensível para êste isolamento uma linhagem celular derivada de um astrocitoma de camundongo (E.P.O.). Esta linhagem celular foi obtida por PEARSON & col.¹⁶ e demonstrada sensível ao vírus rábico das ruas por ATANASIU & LAURENT, em 1957⁶.

LÉPINE & ATANASIU, em 1963¹⁵, confirmando os achados de LÉPINE & SAUTTER em 1946, demonstraram que os corpúsculos de Negri, assim como as inclusões específicas evidenciadas em culturas celulares por anticorpos fluorescentes, contêm somente RNA e não DNA. Concluem, pois, ser o vírus rábico um ribovírus. Esta característica fundamental, associada ao estudo morfológico ao microscópio eletrônico por ATANASIU & col.⁷, colocam-no na categoria dos mixovírus. Portanto êsses Autores, considerando as características físicas e morfológicas, a cinética de multiplicação, natureza ribonucléica e analogia com certos vírus salivares de roedores, sugerem a inclusão do vírus rábico ao grupo mixovírus¹.

De acôrdo com o Comitê Internacional de Nomenclatura de 1963, pertencem também ao grupo dos mixovírus os agentes da Rinderpest, da Cinomose, da Febre Africana dos suínos e o vírus respiratório sincicial. A inclusão dêstes agentes justifica-se, segundo HIRST¹¹, pela semelhança que possuem com o vírus da moléstia de Newcastle quando observados ao microscópio eletrônico.

Não possuem, porém, hemaglutinina bem definida.

A classificação definitiva dos vírus, no entanto, ainda está sendo objeto de estudos e o tema será provavelmente abordado no próximo Congresso Internacional de Microbiologia, em Moscou. Desde que morfologia e estrutura química figurem como características fundamentais para a classificação dos vírus, pondera ANDREWES² que será necessário incluírem-se ao grupo dos mixovírus os agentes da cinomose, sarampo, rinderpest, leucemia aviária, leucemia dos camundongos e raiva.

Segundo CRUICKSHANK¹⁰, porém, a classificação baseada exclusivamente em critérios morfológicos deve ser encarada com reserva; êste Autor aponta, entre outros, o vírus da raiva, o qual, embora apresentando caracteres estruturais comuns aos mixovírus, possui propriedades biológicas diferentes das do grupo que não justificam sua inclusão aos mixovírus.

São as seguintes as características fundamentais gerais dos mixovírus¹⁷.

MORFOLOGIA

Estudos recentes de microscopia eletrônica em elevada resolução, associados à análise do padrão de difração por raios X de preparações de cristais dos vírus, comprovaram que a unidade viral se apresenta, nos mixovírus, sob forma de partículas irregularmente esféricas com projeções superficiais regularmente espaçadas; o componente interno, resistente à tripsina e constituído de ácido ribonucléico em arranjo helicoidal, representa o antígeno solúvel responsável pela reação de fixação do complemento. Possuem ainda uma membrana limitante e uma camada externa geralmente oriunda de material da célula parasitada. Os vírus da Influenza podem ocasionalmente apresentar-se sob forma filamentosos. Portanto, o corpúsculo elementar do mixovírus apresenta três componentes principais: estrutura interna helicoidal que é o antígeno "S", zona intermediária de estrutura não determinada que contém os antígenos fixadores do complemento "V" e hemaglutinantes, e revestimento externo derivado das células parasitadas.

PATOGENICIDADE

Os vírus Influenza A humano, B, C, caxumba, Parainfluenza e sarampo produzem infecção natural no homem. O vírus da moléstia de Newcastle somente atinge aqueles muito expostos, como granjeiros e laboratoristas, traduzindo-se a infecção por quadro clínico de conjuntivite. Muita polêmica tem havido sobre a possível relação entre a Influenza humana e a Influenza animal. Já que possuem um antígeno solúvel fixador do complemento em comum, é possível que os vírus Influenza suíno, equino e aviário tenham resultado de mutantes da Influenza humana. Embora não se disponha de provas concretas, é possível também que essas amostras possam ser novamente transmitidas ao homem e se tornar prevalentes como patogênicos humanos.

Em relação à Influenza suína, por exemplo, coincide o seu aparecimento nos suínos com a pandemia de 1918, tendo se postulado que a Influenza suína é de fato uma infecção com o vírus da Influenza humana prevalente em 1918, apresentando com êste, estreitas relações antigênicas.

A epidemia equina ocorrida em 1963 nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro, teve como agente etiológico um vírus Influenza tipo A que se denominou Influenza A equino, com estreitas relações antigênicas com o vírus tipo A2 humano, também chamado Asiático, responsável pela pandemia de gripe de 1957⁸.

Atualmente, está se dando importância a certos animais, equinos, bovinos e aves, como depositários de vírus respiratórios potencialmente transmissíveis à população humana.

CULTIVO

Com exceção do Parainfluenza tipos 1 e 4 e do vírus do sarampo, todos os mixovírus se multiplicam bem na cavidade amniótica e, após adaptação, na cavidade alantóide do ovo embrionado. As culturas de tecido estão sendo muito empregadas atualmente para estudo dos mixovírus, em particular, as células epiteliais de rim de macaco. Nestas, podemos evidenciar precocemente a infecção através da reação de hemadsorção, empregando-se hemácias de cobaia. Os vírus da caxumba, moléstia de Newcastle, Parain-

influenza e sarampo produzem células gigantes nas culturas celulares, ao passo que os vírus da Influenza somente são evidenciados através da reação de hemadsorção.

PRODUÇÃO DE INTERFERON

Os vírus da Influenza, caxumba e outros mixovírus dão origem ao fenômeno de interferência, prontamente demonstrado em culturas de tecido ou cavidade alantóide¹⁷. Acredita-se atualmente que a proteína liberada das células por ação de vírus e descrita como Interferon, seja responsável pelo efeito protetor no fenômeno de interferência. O Interferon foi obtido e descrito pela primeira vez por ISAACS & LINDENMANN¹³ em um sistema em que o vírus Influenza tipo A humano, inativado por luz ultravioleta, foi incubado com fragmentos de membrana corioalantóide em solução salina. A presença de Interferon foi revelada pelo fato do líquido em que foram suspensas as células conferir resistência à infecção por vírus homólogo, quando adicionado a novas suspensões de membrana. O Interferon pode ser obtido empregando-se vírus Influenza, moléstia de Newcastle, Influenza aviária e sarampo inativado pelo calor ou luz ultravioleta. Visando estabelecer proteção às infecções respiratórias mais usuais como o são o resfriado comum e a gripe, trabalha-se atualmente em caráter experimental em voluntários humanos, com Interferon obtido a partir do vírus Influenza e alguns rinovírus. Após aplicação tópica de Interferon na mucosa nasal, eram estes voluntários submetidos ao vírus ativo homólogo; estas experiências recentes, contudo, não demonstram efeito protetor convincente, necessitando comprovação ulterior, para possibilitar a abertura de um campo para terapêutica para vírus em geral.

ESTRUTURA QUÍMICA

Até a purificação, especialmente pelo processo de adsorção a hemácias e posterior eluição, tem-se conseguido determinar a composição química dos mixovírus, os quais, além de ácido ribonucleico, possuem lipoproteínas, mucoproteínas e carboidratos¹⁹. Os mixovírus se mostram sensíveis ao éter e ao desoxicolato.

Propriedade característica dos mixovírus é a hemaglutinação¹², devida a reação do corpúsculo elementar com os receptores mucoprotéicos presentes nos glóbulos vermelhos. O fator responsável, dito hemaglutinina, é provavelmente idêntico ao antígeno viral ativo na reação de fixação do complemento. O princípio ativo da hemaglutinina é uma enzima, a neuraminidase, que age sobre o ácido neurâmico do receptor dos glóbulos vermelhos. Pela ação da enzima esse receptor é destruído, seguindo-se posteriormente a eluição da partícula viral. Difere esta hemaglutinação daquela causada pelos poxvírus, onde a hemaglutinina é solúvel e portanto independente da partícula viral, e da hemaglutinação causada pelos arbovírus, em que não há destruição dos receptores¹⁷.

O fenômeno da hemaglutinação por mixovírus foi muito bem estudado por HIRST & col.¹¹, com as seguintes conclusões: 1) é propriedade do corpúsculo elementar do vírus; 2) processa-se mais rapidamente a reação a 37°C; 3) é produzido mesmo por partículas elementares não infetantes, isto é, inativadas por calor ou formol; 4) é seguido de eluição da partícula viral quando produzido por vírus infetantes, tornando-se as células não aglutináveis pelo mesmo vírus, embora aglutináveis por outros mixovírus; 5) é inibido por anticorpos específicos e certos inibidores mucóides inespecíficos que competem com o receptor da hemácia pela enzima viral.

Quanto à hemolisina, o subgrupo caxumba — Newcastle — Parainfluenza, provoca lise de glóbulos vermelhos. O subgrupo Influenza, embora destrua os receptores das hemácias à aglutinação, não provoca hemólise.

ESTRUTURA ANTIGÊNICA

A estrutura antigênica dos mixovírus é complexa, com presença de antígenos viral e solúvel. Em suspensões de vírus, o antígeno viral — "V" — é separável do solúvel — "S" — mediante ultracentrifugação e dele se distingue por ser de maior tamanho, possuir capacidade infetante, produzir lesões tóxicas em camundongos, induzir resistência em vertebrados e desenvolver anticorpos fixadores do complemento após vacinação; é de natureza lipo ou mucoprotéica, em con-

traste com a natureza ribonucléica do antígeno solúvel¹⁷.

A presença de antígeno solúvel é revelada através da reação de fixação do complemento. Todos os componentes do tipo Influenza A, tanto humano como animais possuem antígeno solúvel em comum. O tipo B apresenta também antígeno comum, o mesmo ocorrendo com o tipo C, não havendo reação cruzada entre estes tipos. Os antígenos solúveis do vírus da caxumba, moléstia de Newcastle e Parainfluenza possuem relativa especificidade, havendo, porém, discreta reação cruzada entre eles. O antígeno viral ou específico dos mixovírus encontra-se, como dito acima, presente no corpúsculo elementar sob forma de mucoproteína. É também chamado antígeno hemaglutinante, podendo ser revelado através de hemaglutinação, fixação do complemento e neutralização. Para a partícula de vírus Influenza A humano há cerca de 20 hemaglutininas diferentes, com predominância de um antígeno que determina o subtipo. Os antígenos hemaglutinantes do vírus Influenza B e C são diferentes entre si e em relação ao tipo A. No subgrupo Caxumba — Newcastle — Parainfluenza há discreta reação cruzada entre os antígenos hemaglutinantes. Este subgrupo é bastante estável antigênicamente ao contrário do vírus Influenza A humano, que apresenta acentuada tendência à variação do antígeno viral. A causa desta variação antigênica é muito discutida. A explicação mais aceita é que o estado imunitário da população age como força de seleção. À medida que uma variante se torna prevalente, o nível geral de resistência se eleva e poucos indivíduos permanecem suscetíveis ao estabelecimento do vírus, criando-se assim condições favoráveis para a seleção de mutantes de constituição antigênica diferente, que passam então a ser dominantes.

Em relação a reações antígeno-anticorpo os mixovírus reagem com anti-soros específicos por vários métodos. O antígeno "S" dá reação de grupo e o "V" é específico. O anticorpo contra o antígeno "S" aparece mais precocemente, às vezes, durante o período agudo da infecção, e declina rapidamente, ao passo que o anticorpo anti"V" aparece mais tardiamente e perdura por longo período.

A inibição da hemaglutinação é empregada na identificação de subtipo de amos-

tras do vírus e na pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação em soros preparados de pacientes.

SUMMARY

The Myxovirus group: present status

The properties of the Myxovirus Group are succinctly described by the Authors. Special reference is made to the newest members proposed to be included in this group, the Measles agent (LÉPINE¹⁴ and LWOFF) and the Rabies virus (LÉPINE & ATANASIU¹⁵). The recent inclusion of the Rinderpest, Canine Distemper, Swine African Fever agents and the Syncytial Respiratory virus, approved by the International Subcommittee of Nomenclature in 1963 (HIRST¹¹), is also pointed out. The present paper is not intended to be a complete review on the subject.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J. D.; HOWATSON, A. F.; PINTERIC, L. & FENJE, P. — Electron microscope observations on Rabies virus by negative staining. *Virology* 18:147-151, 1962.
2. ANDREWES, C. H. — *Ciba Foundation Symposium: Cellular Biology of Myxovirus Infections*. Palestra de abertura do Presidente do Simpósio de Mixovírus. London, J. & A. Churchill, 1964, pp. 1-4.
3. ANDREWES, C. H.; BANG, F. B. & BURNET, F. M. — A short description of the Myxovirus group (Influenza and related viruses). *Virology* 1:176-184, 1955.
4. ANDREWES, C. H.; BANG, F. B.; CHANOCK, R. M. & ZHDANOV, V. M. — Para-influenza viruses 1, 2 and 3: suggested names for recently described Myxoviruses. *Virology* 8: 129-130, 1959.
5. ANDREWES, C. H.; BURNET, F. M.; ENDERS, J. F.; GARD, S.; HIRST, G. K.; KAPLAN, N. M. & ZHDANOV, V. M. — Taxonomy of viruses infecting vertebrates: present knowledge and ignorance. *Virology* 15:52-55, 1961.
6. ATANASIU, P. & LAURENT, C. — *Virologie — Multiplication du virus de la rage des rues sur une cellule gliale (Ependymome de la Souris) en culture de tissus, aspect histologique*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 245:2562-2564, 1957.
7. ATANASIU, P.; LÉPINE, P.; SISMAN, J.; DAUGUET, C. & WETTEN, M. — *Virologie*

- Étude morphologique du virus rabique des rues en culture de tissu. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 256:3219-3384, 1963.
8. BRUNO-LÔBO, M. — (Comunicação pessoal, 1964).
 9. COOK, M. K.; ANDREWS, B. E.; FOX, N. N.; TURNER, N. C.; JAMES, W. D. & CHANOCK, R. M. — Antigenic relationships among the "newer" Myxoviruses (Parainfluenza). *Amer. J. Hyg.* 69:250-264, 1959.
 10. CRUICKSHANK, J. G. — *Ciba Foundation Symposium: Cellular Biology of Myxovirus Infections. Structure of Myxoviruses.* London, J. & A. Churchill, 1964, pp. 18-19.
 11. HIRST, G. K. — *The Myxovirus Group* (In Horsfall, J. A. L. & Tamm, I. — *Viral and Rickettsial Infections of Man.* 4th ed. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1965, pp. 685-688.
 12. HIRST, G. K. — *Cell virus attachment and the action of antibodies on virus. Hemagglutination by Myxoviruses.* (In Horsfall Jr., A. L. & Tamm, I. — *Viral and Rickettsial Infections of Man.* 4th ed. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1965, pp. 218-222.
 13. ISAACS, A. & LINDENMANN, J. — Virus interference. I. The interferon. *Proc. Roy. Soc. Biol.* 147:258-267, 1957.
 14. LÉPINE, P. — *Techniques de laboratoire en virologie humaine.* Paris, Masson, 1964, pp. 315-342; 681-711.
 15. LÉPINE, P. & ATANASIU, P. — Virologie. Sur la nature du virus rabique. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 256:4783-4785, 1963.
 16. PEARSON, H. E.; ATANASIU, P. & LÉPINE, P. — La multiplication du virus rabique dans un astrocytome transmissible chez la souris. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 94:1-6, 1958.
 17. RHODES, A. J. & van ROOYEN, C. E. — *Textbook of Virology.* Fourth edition. Baltimore. Williams & Wilkins, 1962, pp. 121-128; 192-203; 213-227; 247-253.
 18. ROSANOFF, E. I. — Hemagglutination and hemadsorption of measles virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 106:563-564, 1961.
 19. VALENTINE, R. C. & ISAACS, A. — The structure of viruses of the Newcastle disease — Mumps — Influenza (Myxovirus) group. *J. Gen. Microbiol.* 16:680-685, 1957.
 20. WATERSON, A. P. — Two kinds of Myxoviruses. *Nature (London)* 193:1163-1164, 1962.
 21. WATERSON, A. P.; CRUICKSHANK, J. G. & LAURENCE, G. D. — The nature of measles virus. *Virology* 15:379-382, 1961.
 22. ZHDANOV, V. M. & RITOVA, V. V. — Evaluation of the effectiveness of live influenza vaccines. *J. Hyg. Epidem. (Praha)* 3:472-479, 1959.

Recebido para publicação em 16/12/1965.