

## PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-RÁBICOS EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A RADIAÇÕES BETA-GAMA\*

W. Beçak e A. Baixeras.

As radiações ionizantes interferem no mecanismo de produção de anticorpos (8, 10). Evidenciou-se a influência das variações de tempo decorrido entre a radiação e a inoculação de antígeno (12), assim como a importância da dose de radiação (6, 11, 14) e da espécie animal (4). Várias hipóteses foram formuladas para explicar a ação das radiações: alteração dos órgãos hematopoéticos (9), do sistema macrófago-linfóide (7, 13) e interferência sobre uma das fases do mecanismo de formação de anticorpos (3).

Não temos conhecimento de estudo referente ao efeito de radiações sobre o mecanismo de imunização por vírus. Neste trabalho preliminar apresentaremos alguns dados de provas de imunização anti-rábica de camundongos após radiação beta-gama.

### MATERIAL E MÉTODOS

Animais: camundongos da linhagem C-Butantan (2), de 3 a 4 semanas de idade.

Irradiação: bomba de césio<sup>137</sup>-bário<sup>137</sup> de 48 euries, emissora de radiações beta-gama. Os animais foram divididos em três grupos; o primeiro não foi irradiado, o segundo e o terceiro, colocados em mangueiras de plástico transparente, perfuradas e dispostas em círculo ao redor da fonte, receberam 500 r e 1000 r respectivamente, num tempo total de 137 minutos.

Antígeno: vacina anti-rábica tipo Semple para uso humano, contendo 10% de tecido cerebral e preparada no Instituto Butantan.

Vírus de prova: amostra CVS-56 (NIH) após 3 passagens em cérebro de camundongo. A suspensão aquosa de tecido nervoso infectado, mantida liofilizada em ampolas de 1 ml., no momento de usar foi ressuspensa em salina contendo 2% de sôro normal de cavalo e dosou em média  $DL_{50} 10^{-5.5}$ .

Os três grupos de animais, divididos em sub-grupos, foram submetidos ao tratamento de acordo com a tabela I.

\* Trabalho realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas e do Fundo de Pesquisas do Instituto Butantan, no Laboratório de Vírus e Virusterapia sob Direção do Dr. A. Vallejo-Freire.

TABELA I

Distribuição dos animais segundo a irradiação e o tratamento

Sub-grupos	Irradiação Total		Tratamento		
	500 r	1000 r	vacinação anti-rábica	inoculação virus rábico	sangria
A - 0	—	—	+	+	—
A - 500	+	—	+	+	—
A - 1000	—	+	+	+	—
B - 0	—	—	+	—	+
B - 500	+	—	+	—	+
B - 1000	—	+	+	—	+
C - 0	—	—	—	—	—
C - 500	+	—	—	—	—
C - 1000	—	+	—	—	—

Os camundongos dos sub-grupos A foram submetidos à prova de Habel (5), iniciando as vacinações 40 horas após a irradiação.

Os camundongos dos sub-grupos B foram vacinados com a mesma técnica e ao mesmo tempo. A metade dos animais foi sangrada no 18º dia e o restante no 28º. A mistura dos soros correspondentes a cada sangria foi utilizada para prova de neutralização (15) feita nas diluições de 1/2 até 1/1250, usando-se 39 DL<sub>50</sub> de vírus para a prova do 18º dia e 150 DL<sub>50</sub> para o do 28º dia. Numa segunda experiência foram utilizados 63 DL<sub>50</sub> nas provas das misturas de soros coletados no 15º e no 27º dia.

Os camundongos dos sub-grupos C serviram de controle sem tratamento.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da proteção da vacina nos três sub-grupos A são apresentados na tabela II.

TABELA II

1.ª Experiência. Resultados de prova de Habel nos sub-grupos A

Sub-grupos	Proteção da vacina
A - 0	> 31.600 DL <sub>50</sub>
A - 500	954 DL <sub>50</sub>
A - 1000	7 DL <sub>50</sub>

Esses resultados não permitem comparar os efeitos sobre a formação de anticorpos, pois interferem nos dados de mortalidade pelo vírus de prova, as mortes por efeito de irradiação.

Considerando as mortes ocorridas durante os primeiros 22 dias como independentes da ação do vírus rábico, os dados foram agrupados em duas classes. Na primeira foram computadas todas as mortes ocorridas entre o 22º dia, isto é, 6 dias após a inoculação do vírus até o 30º dia, quando a experiência foi concluída. Na segunda foram incluídos os comundongos que estavam vivos e normais no 30º dia (tabela III).

TABELA III  
1.ª Experiência. Mortalidade nos sub-grupos A e C.

	A - 0	A - 500	A - 1000	C - 0	C - 500	C - 1000
mortos	4	29	21	0	3	3
sobreviventes	64	66	10	49	45	25
total	68	95	31	49	48	28

Como na mortalidade total se incluem, além do número de mortes pela infecção experimental, as mortes devidas à irradiação, foi utilizada a correção proposta por Abbot (1), comparando com os resultados nos sub-grupos C. Deste modo, obteve-se a mortalidade devida exclusivamente às inoculações do vírus (tabela IV).

TABELA IV  
1.ª Experiência. Resultados corrigidos pela fórmula de Abbot\*.

	A - 0	A - 500	A - 1000
mortalidade total após o 22º dia ( $M'$ )	0,058	0,305	0,677
mortalidade devida ao vírus de prova ( $M$ )	0,058	0,259	0,638

\* $M' = R + M(1 - R)$ , onde:

$M'$  = mortalidade total.

$R$  = mortalidade devida à irradiação, observada nos sub-grupos C.

$M$  = mortalidade devida ao vírus de prova.

Os resultados correspondentes aos sub-grupos A, após as correções necessárias para a obtenção de M (tabela IV), foram submetidos à análise estatística, obtendo-se um valor de  $\chi^2 = 30,492$  ( $P < 0,01$ ), que é altamente significante.

Em outra experiência do mesmo tipo foram obtidos os resultados que constam nas tabelas V, VI e VII.

TABELA V

2.<sup>a</sup> Experiência. Resultados da prova de Habel nos sub-grupos A.

Sub-grupos	Proteção da vacina
A - 0	44.600 DL <sub>50</sub>
A - 500	22.400 DL <sub>50</sub>
A - 1000	< 10 DL <sub>50</sub>

TABELA VI

2.<sup>a</sup> Experiência. Mortalidade nos sub-grupos A.

	A - 0	A - 500	A - 1000
mortos	6	12	24
sobreviventes	49	41	3
total	55	53	27

TABELA VII

2.<sup>a</sup> Experiência. Resultados corrigidos pela fórmula de Abbot.

	A - 0	A - 500	A - 1000
mortalidade total após o 22. <sup>o</sup> dia (M')	0,109	0,226	0,888
mortalidade devida ao vírus de prova (M)	0,109	0,153	0,874

Os resultados corrigidos desta segunda experiência (M, tabela VII), são também altamente significantes ( $\chi^2 = 48,149$ ;  $P < 0,01$ ).

Os soros dos animais de cada sub-grupo B, da primeira experiência, sangrados no 18º dia após a irradiação, foram misturados, para a prova de sôro neutralização, o mesmo sendo feito para a sangria do 28º dia. Os resultados obtidos, tomando-se como critério a diluição de sôro que protege 50% dos animais, são apresentados na tabela VIII.

TABELA VIII

1.ª Experiência. Resultados das provas de sôro-neutralização nos sub-grupos B.

Sangria	B - 0	B - 500	B - 1000
18.º dia	1:104	1:54	< 1:2
28.º dia	1:79	1:68	< 1:2

Na segunda experiência os animais foram sangrados no 15º e 27º dia, obtendo-se os resultados da tabela IX.

TABELA IX

2.ª Experiência. Resultados das provas de sôro-neutralização nos sub-grupos B.

Sangria	B - 0	B - 500	B - 1000
15.º dia	—	1:112	≤ 1:10
27.º dia	1:160	1:82	≤ 1:10

Os dados apresentados demonstram que, dependendo da dosagem, as radiações beta-gama deprimem ou inibem o mecanismo de formação de anticorpos anti-rábicos em camundongos estimulados repetidamente com antígeno específico, nos primeiros dias após a irradiação.

#### Resumo

Camundongos submetidos a radiações beta-gama (500 r e 1000 r) foram inoculados com antígeno constituído de vírus rábico inativado (vacina tipo Semple) com a finalidade de determinar alterações de comportamento perante inoculação intracerebral de vírus rábico (CVS).

A mortalidade dos animais inoculados está diretamente relacionada com a intensidade da irradiação; comprovou-se, por meio de provas de sôro neutralização, que esse aumento de mortalidade corresponde a uma diminuição de formação de anticorpos nos animais irradiados e vacinados.

*Summary*

Mice previously exposed to beta-gama radiations (500 r and 1000 r) were inoculated with antigen consisting of inactivated rabies virus (Semple vaccine), in order to detect changes in the behaviour after intracerebral inoculation of rabies virus (CVS).

The mortality of inoculated animals is directly related with the intensity of irradiation; neutralizing tests proved that this increasing mortality corresponds to a decrease in the formation of antibodies in the irradiated and vaccinated animals.

---

Agradecemos ao Prof. C. Pavan por ceder a bomba de célio-bário, utilizada na irradiação dos animais.

- 1 — Abbott, W. S. — J. Econ. Ent., 18: 265-267, 1925.
- 2 — Beçak, W. — Organização de biotério de camundongos para uso experimental. Monografia Instituto Butantan, 1958.
- 3 — Dixon, F. J.; Talmage, D. W. and Maurer P. H. — J. Immunol., 68: 693, 1952.
- 4 — Gengozian, N. Makinodan, T. — J. Immunol., 80: 189, 1958.
- 5 — Habel, K. — Monografia 23, OMS — 1956.
- 6 — Hale, W. M. e Stoner, R. D. — J. Immunol., 77: 410, 1956.
- 7 — Jaroslav, B. N. — J. Inf. Dis., 104: 119-129, 1959.
- 8 — Katz, L. N. — Circulation, 5: 101, 1952.
- 9 — Makinodan, T.; Gengozian, N. e Congdon, C. — J. Immunol., 77: 250-256, 1954.
- 10 — Rodband, S.; Katz, L. N.; Bolene, C.; Pick, R.; Lowenthal, M. e Gros, G. — Circulation, 3: 867, 1951.
- 11 — Silverman, M. S. e Chin, P. H. — J. Immunol., 75: 321, 1955.  
J. Immunol., 77: 266, 1956.
- 12 — Smith, F. e Gump, H. P. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 85: 412-414, 1954.
- 14 — Taliaferro, W. H. e Taliaferro, L. G. — J. Inf. Dis., 87: 37-62, 1950.
- 14 — Taliaferro, W. H.; Taliaferro, L. G. e Janssen, E. F. — J. Inf. Dis., 91: 105, 1952.
- 15 — WHO — Rabies — 100, 1956.