

SOBRE A DURAÇÃO DA ACTIVIDADE DO ANTIGENO PARA A REACÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO NA FEBRE AMARELLA

POR

J. LEMOS MONTEIRO E J. TRAVASSOS

Os resultados experimentaes já assignalados por diversos auctores sobre a reacção de fixação do complemento na febre amarella são sufficientes para mostrar o valor desta reacção para o diagnostico da infecção depois de certo periodo e na convalescença, assim como para a determinação retrospectiva de antigos doentes, principalmente os de formas frustras e inapparentes ou de individuos naturalmente immunizados, residentes em zonas endemicas. A importancia da reacção praticada por occasião de surtos epidemicos mais se evidencia quando se tem em vista que a immunidade consequente á infecção amarillica é de longa duração, persistindo, segundo experiencias de Hindle (1), pelo menos 24 annos.

Os resultados dos estudos experimentaes a respeito e a especificidade da reacção já foram descriptos e estudados em diversos trabalhos, principalmente por Frobisher (2), Davis (3) e por nós (4).

Tambem já assignalamos que soros contendo anticorpos fixadores do complemento são capazes de proteger o *Macacus rhesus* em relação á infecção experimental, podendo a reacção substituir o processo da prova de protecção, muito dispendioso e que nem sempre pode ser realizado, para o diagnostico da infecção.

Pudemos, ultimamente, mais uma vez, confirmar esse facto com soros, que nos foram enviados para diagnostico pelo dr. Salvador Mazza, provenientes de casos suspeitos manifestados em certas regiões ao norte da Argentina.

O antígeno mais commummente usado para a reacção é o preparado com figado de *Macacus rhesus* infectado, tratado, sob varias technicas, pelo methodo de extracção descripto por Hindle (5). Melhores resultados obtivemos com a technica apresentada em nosso trabalho citado. Mais recentemente, Hudson (6) verificou que a mistura de soros de macacos infectados, colhidos em reacção

febril, depois de congelada, submettida á seccagem por uma technica especial e conservada em estado secco, pode ser utilizada com antigeno, mantendo durante mais de um anno as suas propriedades. Este auctor verificou, por experiencias comparativas, ser elle um agente fixador mais efficaz que os antigenos preparados com tecido hepatico de macacos infectados.

Tendo-nos aquelle collega argentino, tambem, solicitado antigeno amarillico para a pratica da reacção, resolvémos, antes de attendel-o, tornar a verificar os nossos antigenos, conservados a 5°C., em face de soros anteriormente já experimentados e que conservamos empolados nas mesmas condições de temperatura.

Os resultados das reacções praticadas com 2 antigenos datando de quasi 2 annos (cerca de 1 anno e 9 mezes) são resumidos na presente nota, assim como algumas considerações que julgamos necessarias e de interesse para sua execução e interpretação dos resultados.

Os antigenos, 105A e 109A, preparados segundo a technica já descripta (2.^a nota: Mem. Inst. Butantan V. 1930), apresentavam um precipitado, sendo, por isto, novamente filtrados em papel filtro fino. A dose usada foi de 0,2 c.c. Os soros a examinar, depois de aquecidos durante 1/2 hora a 55°, foram usados nas doses de 0,2 e 0,1 c. c. para cada tubo, sendo feito um tubo testemunha do soro para verificação do poder impediente ou anticomplementar. A dose do complemento (soros de 3 cobaias normaes, pelo menos, diluido a 1/20) a ser ajuntada é da maxima importancia, devendo ser rigorosamente determinada em face do antigeno. Esta dose é a que determina a hemolyse total, accrescida de pequeno excesso somente (1,1 ou 0,05 c. c.). Para os casos de soros anticomplementares somente é que lançamos mão de doses crescentes de unidades complementares, segundo a technica anteriormente descripta (1.^a Nota: Mem. Inst. Butantan V. 1930). Na primeira phase da reacção, os tubos, depois de completado o volume para 1,5 c.c., são mantidos em banho-maria a 37° durante 1 1/2-2 horas; na segunda phase, ajunta-se 0,5 c.c. de hematias lavadas e sensibilizadas com 4 unidades hemolyticas, sendo a incubação continuada por 1/2 hora.

A leitura do resultado é feita no fim deste tempo ou antes, logo que se verifique hemolyse total no tubo testemunha. O resultado definitivo é dado pela nova leitura feita 24 horas depois, tendo os tubos permanecido na geladeira a 5°C.

O quadro annexo mostra os resultados obtidos com cerca de 20 soros, estando registados os anteriormente obtidos e os das reacções agora praticadas, datando os antigenos de quasi 2 annos. Foram examinados soros de convalescente e de pessoas que haviam tido a infecção (não confirmada em um), sangradas posteriormente, soros de *Mac. rhesus* immunizados e de algumas pessoas residentes na Bahia, de resultado anterior positivo e ainda conservados em stock. Como testemunhas foram tomados soros de animaes (cobaia, coelho e *rhesus*) infectados com o typho exanthematico de S. Paulo.

SOROS EXAMINADOS	ANTIGENO N.º 105A, preparado em 25/VII/930								ANTIGENO N.º 109A, preparado em 4/VIII/930			
	Reacções em 30/VII/30 e 26/VIII/30				Reacções em 27/IV/32				Reacções em 27/IV/32			
	Leitura imediata		Leitura após 24 h.		Leitura imediata		Leitura após 24 h.		Leitura imediata		Leitura após 24 h.	
	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
P. F. N. convalescente febre amarella	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
Rlo, caso extr. (27/I/30) não confirmado	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rlo, caso 91 (14/II/30)	4	3	3	2	4	4	4	3	4	4	3	2
Rlo, caso 84 (19/II/30)	4	4	3	3	3	—	1	—	4	4	3	2
Rlo, caso 62 (19/II/30)	+	0	0	0	1	2	0	+	2	1	+	0
Rlo, caso 102 (4/II/30)	4	3	3	2	3	3	2	1	4	4	3	2
Rlo, caso 32 (29/I/30)	4	4	4	4	—	—	—	—	4	4	4	4
Bahia, caso 46.	3	2	2	1	4	3	4	3	4	4	3	2
Bahia, caso 51.	4	3	3	2	4	4	4	4	4	4	4	4
Bahia, caso 71.	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4
Bahia, caso 92.	4	3	3	2	4	4	4	3	4	4	4	4
Bahia, caso 67 *	3	2	2	1	4	4	4	3	4	4	4	3
Rhesus 104 (11/VIII/30)	4	4	4	4	4	3	3	2	—	—	—	—
Rhesus 77 (13/XI/29)	4	4	4	3	4	4	4	3	—	—	—	—
Rhesus 121 (29/VIII/31)	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4
Rhesus 112 (28/VIII/30)	4	4	4	3	4	4	4	3	4	4	4	4
Rhesus 57 (17/X/29)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
Rhesus 32 (12/XI/29)	4	3	3	2	2	—	1	—	4	3	3	2
Rhesus 114 (18/VIII/30)	4	4	4	3	4	3	3	2	4	4	4	4
Rhesus 62 (6/VIII/29)	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4
Rhesus 122 (21/VIII/30)	3	2	2	1	3	3	1	2	4	4	2	3
Cobala 654 — Typho exanth.	—	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0
Coelho 23 — Typho exanth.	—	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhesus 9 — Typho exanth.	—	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0

4 = ++++

3 = +++

2 = ++

1 = +

+ = +

0 = negativo

— = não foi feita a reacção

* = com estes soros as reacções primitivas foram praticadas com o antígeno n.º 102A

Pelo estudo comparativo dos resultados assignalados no quadro, verifica-se que os antigenos conservaram estaveis suas propriedades fixadoras do complemento em face dos soros especificos, mostrando-se até, em alguns casos, mais efficazes depois de decorrido aquelle prazo de conservação a 5°C.

Por estes resultados, conclue-se que o antígeno amarillico preparado com figado de *rhesus* infectado, segundo technica anteriormente descripta, conserva estaveis e, talvez mesmo fortalecidas, suas propriedades fixadoras do complemento por um tempo relativamente longo (verificação após quasi 2 annos), em face de soros especificos.

ABSTRACT

In a previous paper it was shown that the verification of both experimental yellow fever and immunity of persons having had the natural infection and living in endemic zones can be based on the complement fixation reaction. This reaction may take the place of the proof of protection of *rhesus* monkeys by means of immune serum, a process that is much more costly and tedious.

The result of those previous experiments has recently been confirmed in regard to a few samples of sera secured in Bolivia and received from Argentina for diagnosis, the antigen used having been prepared from the liver of infected *rhesus* nearly two years ago (21 months).

Having thus retested several samples of sera previously examined, the Authors found that the complement fixation power of their yellow fever antigen in the presence of immune sera has not changed for nearly two years and seems to have become somewhat strengthened.

BIBLIOGRAPHIA

1. *Hindle, E.* — *Lancet* I:451.1930.
2. *Frobisher Jr., M.* — *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* XXVI:846.1929; *J. Prev. Med.* V(1):65.1931; *Amer. J. of Hygiene* XIII (2):585.1931 *et* *Amer. J. of Hygiene* XIV(1):147.1931.
3. *Davis, G. E.* — *Amer. J. of Hygiene* XIII(1):79.1931.
4. *Monteiro, J. Lemos & Travassos, J.* — *C. R. Soc. Biologie* CIV(21):697.1930; *Brasil Medico* XLV(12):288.1931; 6.^a Reunion Soc. Arg. Path. Reg. Norte, Salta, Oct. 1930 *et* *Mem. Inst. Butantan* V:173.1930.
5. *Hindle, E.* — *Transact. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* XXII:405.1929.
6. *Hudson, N. P.* — *Amer. J. of Hygiene* XV(2):557.1932.

(Trabalho das Secções de Virus e Immunologia do Instituto Butantan, terminado em julho de 1932).