

# AÇÃO DO RADIUM SÔBRE O VÍRUS DA CORIOMENINGITE LINFOCITÁRIA BENIGNA <sup>1</sup>

**J. GUILHERME LACORTE, ESTACIO MONTEIRO**

e

**J. CARVALHO LOURES**

Instituto Oswaldo Cruz — Rio de Janeiro — Guanabara

(Com 1 figura e 10 gráficos)

Além dos trabalhos que temos realizado referente à ação dos raios X sôbre o vírus da gripe, a partir de 1953, pudemos ainda verificar a do radium, não só sôbre êste vírus, como sôbre o da poliomielite. Nas pesquisas iniciais que executamos, pudemos observar que doses fracas de raios X exercem ação excitante sôbre o vírus da gripe, aumentando o seu poder patogênico. As pesquisas subseqüentes confirmaram esta observação. A ação do radium foi igualmente assinalada, se bem que menos intensa. Do mesmo modo, comportou-se o vírus da poliomielite.

Tratando-se de pesquisas pouco executadas pelos que trabalham no assunto, nenhuma pudemos obter a fim de compará-la com as nossas, que figuram entre as primeiras no sentido em que foram executadas e, daí, o seu maior interêsse. Algumas que se encontram nas referências sôbre a ação quer do radium, quer dos raios X, sôbre diferentes espécies de vírus têm como finalidade, principalmente, determinar o efeito letal das doses empregadas o que, nas pesquisas que executamos, passou a figurar em segundo plano.

Em prosseguimento a essas pesquisas, organizamos uma nova série, tendente a observar a ação do radium sôbre um vírus afastado, pelas suas propriedades, daqueles que haviam servido para experiências anteriores. Escolhemos o da coriomeningite linfocitária benigna e os resultados que pudemos obter, assim como as possíveis conclusões nos mesmos baseadas, constituem a matéria da presente publicação.

---

<sup>1</sup> Recebido para publicação a 3 de outubro de 1967.

Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz (Divisão de Virologia: Seção de Vírus).

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra do vírus da coriomeningite linfocitária benigna que empregamos no presente trabalho foi a designada WE, existente em nosso laboratório desde 1944, proveniente do Instituto Rockefeller de Nova York. Tem sido mantida, desde aquela época, por meio de passagens em camundongos brancos e pela conservação, intercalada, do cérebro desses animais, depois de infectados, no congelador, à temperatura de 20-25°C abaixo de zero. A verificação do poder patogênico do vírus ou a determinação do seu título infectante foi feita em camundongos brancos da criação do Instituto Oswaldo Cruz, de 3 a 4 semanas de idade, em grupos de 10 animais para cada diluição do material, isto é, do tecido cerebral triturado no gral, depois de pesado. As inoculações foram feitas por via cerebral, injetando-se 0,03 ml do líquido infectante, em diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

O radium usado foi fornecido pela Canadian Radium and Uranium Corporation de Nova York em tubos de 2,5 cm de comprimento por 0,5 cm de diâmetro, contendo 1 mg de radium. Usamos 4 destes tubos que foram colocados no dispositivo que idealizamos, em pequeno suporte de madeira com escavações destinadas aos tubos que nêle ficavam formando um quadrado. Em volta dêste, adaptamos círculo, também de madeira, com diâmetro interno igual ao do frasco de Carrel que



Fig. 1 — Dispositivo para aplicação do radium em suspensão contendo vírus. Esta é colocada em frasco de Carrel, em camada de 0,1 cm.

usamos para colocar o líquido contendo vírus (Fig. 1). A camada líquida teve a altura de 0,1 cm. O frasco foi esterilizado, de maneira habitual, substituindo-se a rôlha de algodão pela de borracha, esterilizada à parte,

a fim de evitar a evaporação. Depois de completar essas operações colocamos o suporte de madeira com os tubos de radium e o frasco de Carrel, contendo a suspensão de vírus, sobre os mesmos, na caixa de chumbo que se colocou, a seguir, na geladeira, à temperatura de 4°C. Dali só foram retirados na ocasião de determinar os títulos infectantes, em diferentes datas, manejando-se o material com cuidados de assepsia. Como testemunha foi usada metade da mesma suspensão de vírus a qual foi colocada, em igualdade de condições, em idêntico frasco de Carrel que ficou na geladeira, à mesma temperatura. Os títulos infectantes desta forma foram sempre determinados na mesma ocasião em que se determinava o da submetida à ação do radium. Os animais foram observados durante 30 dias.

### EXPERIÊNCIAS E RESULTADOS

Fizemos 11 séries de experiências para a verificação do poder patogênico do vírus. A primeira, 24 horas após a sua exposição ao radium a 23 de outubro de 1963 e, a última, após 535 dias a 27 de julho de 1965.

Na primeira série (gráfico n.º 1), na diluição a  $10^{-1}$ , o vírus irradiado durante 24 horas mostrou-se menos ativo que o testemunha ao passo que, na diluição  $10^{-2}$ , este foi mais ativo observando-se na diluição  $10^{-3}$ , atividade praticamente idêntica de ambos.

Na segunda série (gráfico n.º 2) feitas as provas após 8 dias de exposição ao radium, na diluição  $10^{-1}$ , como no caso anterior, o vírus não irradiado mostrou-se mais ativo e um pouco menos na diluição  $10^{-2}$ , voltando a aumentar na  $10^{-3}$ .

Na terceira série (gráfico n.º 3) feitas as provas após 20 dias de exposição ao radium houve, na diluição  $10^{-1}$ , ligeiro aumento do poder patogênico para o vírus irradiado, um pouco menos na diluição  $10^{-2}$  tendo sido, na  $10^{-3}$ , mais ativo o vírus não irradiado.

Na quarta série (gráfico n.º 4) feitas as provas após 33 dias de irradiação, a da diluição  $10^{-1}$ , o vírus irradiado foi mais ativo, mas, na diluição  $10^{-2}$ , o testemunha mostrou-se ligeiramente mais ativo e, na  $10^{-3}$ , voltou a ser mais ativo o vírus irradiado.

Na quinta série (gráfico n.º 5) feitas as provas após 78 dias de irradiação, o vírus irradiado, na diluição  $10^{-1}$ , mostrou-se mais ativo. Na diluição  $10^{-2}$ , a atividade foi praticamente idêntica para ambos, e na diluição  $10^{-3}$ , não houve mais mortos nem paralíticos.

Na sexta série (gráfico n.º 6) feitas as provas após 85 dias de irradiação, o vírus irradiado foi mais ativo na diluição  $10^{-1}$  mas, na  $10^{-2}$ , foi o testemunha. Com a diluição  $10^{-3}$ , nenhum animal apresentou alterações.

Na sétima série (gráfico n.º 7) feitas as provas após 120 dias de irradiação, o vírus testemunha foi mais ativo na diluição  $10^{-1}$  e, na  $10^{-2}$ , o vírus irradiado foi ligeiramente mais ativo. Na diluição  $10^{-3}$ , nenhum animal apresentou alterações.

Na oitava série (gráfico n.º 8) feitas as provas após 264 dias de irradiação, a atividade foi praticamente a mesma para o testemunha. Nas diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , os animais não apresentaram alterações.

Na nona, décima e décima primeira séries, feitas as provas após 292, 387 e 535 dias, nenhuma alteração acusaram os camundongos que foram sacrificados e necropsiados após 45 dias de inoculados. Estas três provas foram feitas com o intuito de seguramente apurar se ainda restava qualquer vírus ativo no material que estávamos verificando.

### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Pelas experiências que acabamos de relatar, acompanhadas dos resultados obtidos, verificamos, em primeiro lugar, certa irregularidade de manifestações, o que não acontecera com as que anteriormente havíamos executado empregando os vírus da gripe e poliomielite, possivelmente devido à maior fixidez que estes apresentam quando ao seu poder patogênico experimental, comparando-se com o da coriomeningite linfocitária benigna.

Ao analisar os dados obtidos, veremos que, ora houve aumento do poder patogênico com o vírus irradiado, ora não. A fim de melhor analisar estes dados organizamos os gráficos 1 a 10. O primeiro revelou que nas diluições  $10^{-1}$  houve segura predominância do poder patogênico do vírus irradiado, a partir de 20 dias de irradiação. Já nas diluições seguintes, os resultados mostraram, praticamente, igual comportamento do vírus irradiado e do testemunha. Também nos gráficos 9 e 10 verificamos que houve predominância acentuada do vírus irradiado em todas as diluições, após 20 e 33 dias de irradiação, passando a igualar-se, daí por diante, com o testemunha, o que já acontecera após 24 horas de irradiação. No entanto, após 8 dias de irradiação, o vírus testemunha mostrou-se mais ativo.

Observamos que, a partir de 78 dias, na diluição  $10^{-3}$ , o vírus não mostrou qualquer atividade, tanto o irradiado como o testemunha, prolongando-se a observação até 45 dias. O mesmo observamos com a diluição  $10^{-2}$ , após 264 dias e, com a diluição  $10^{-1}$ , após 292 dias. Pudemos concluir pela resistência do vírus, pelo menos durante 264 dias, à temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ . No que diz respeito à ação do radium, o que pudemos concluir, tomando por base os dados obtidos, é que o vírus da coriomeningite linfocitária, à parte pequenas oscilações, não se alterou após 24 horas de irradiação, quanto ao seu poder patogênico para camundongos. Este poder diminuiu após 8 dias de irradiação, passando a aumentar, de modo mais seguro, após 20 e 33 dias, para igualar-se ao testemunha, a partir de 78 dias, feita média dos resultados das diferentes diluições (gráfico 9). Portanto, o vírus terá sido inicialmente atacado, prejudicando-se o seu poder patogênico. Seguiu-se, depois, um período de reação, com sensível aumento deste poder que, por fim, voltou ao normal isto é, igualou-se ao testemunha.

## RESUMO

O presente trabalho faz parte de uma seqüência iniciada em 1953 com a verificação do efeito dos raios X sobre o vírus da gripe em que observamos que os mesmos, em doses fracas, tem aumentado o seu poder patogênico para camundongos. Posteriormente, verificamos a ação do radium sobre o vírus da gripe e da poliomielite. Neste último caso, o vírus irradiado mostrou-se ativo durante maior número de dias.

Nas pesquisas aqui referidas, submetemos o vírus da coriomeningite linfocitária benigna a ação do radium, usando quatro agulhas de 1 mg desse elemento em dispositivo que idealizamos para êste fim. Depois de irradiada, foi a suspensão de vírus diluída a  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  para as inoculações em camundongos, juntamente com as diluições testemunhas.

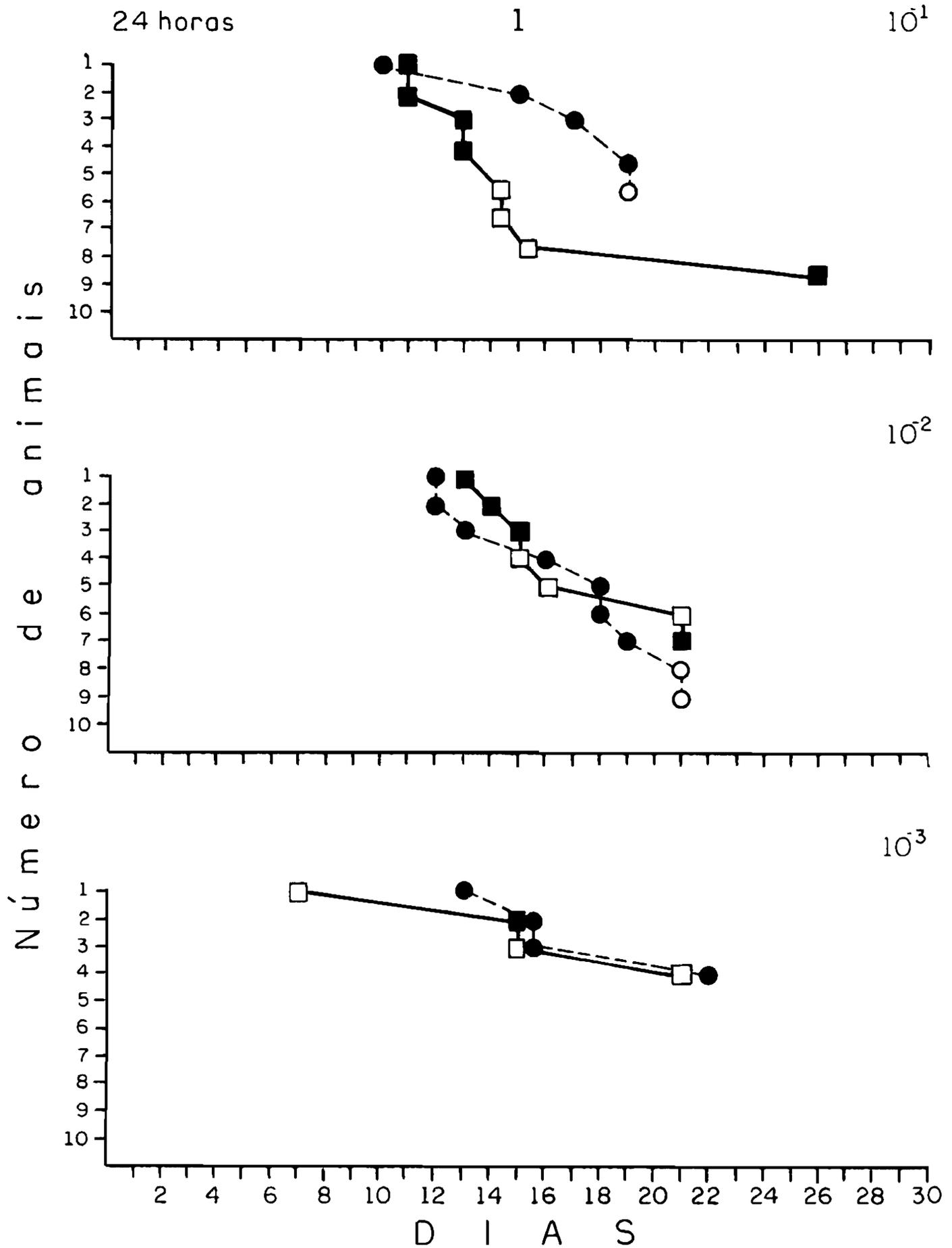
Observamos que o vírus resistiu pelo menos 264 dias, à temperatura de 4°C. Quanto às alterações do poder patogênico provocadas pelo radium verificamos que o mesmo não se altera após 24 horas de irradiação. Diminui após 8 dias para aumentar, de modo seguro, após 20 e 33 dias. Igualou-se ao testemunha depois de 78 dias.

## SUMMARY

### Radium effect upon the lymphocytic choriomeningitis virus

In the present paper the authors referred the experiments made with the lymphocytic choriomeningitis virus, We strain, after exposition to 4 tubes of 1 mg of radium. The virus suspension was put into the Carrel flask in a fluid layer of 0,1 cm. The titrations of the irradiated virus suspension were made after 24 hours, 8, 20, 33, 78, 85, 120, 264, 292, 387 and 535 days. The virus was still active after 264 days, not after 292 days. The virus irradiated during 24 hours presented the same pathogenicity for mice than the control but after 8 days it was lesser and after 20 and 33 days it was enhanced (Graphic 10). After 78 days the pathogenic power was the same for the irradiated virus and the control.

GRÁFICO 1



- | VÍRUS IRRADIADO |                      | TESTEMUNHA |                      |
|-----------------|----------------------|------------|----------------------|
| ●               | Mortos com paralisia | ■          | Mortos com paralisia |
| ◐               | Mortos sem paralisia | ◑          | Mortos sem paralisia |
| ○               | Paralítico           | □          | Paralítico           |

GRAFICO 2

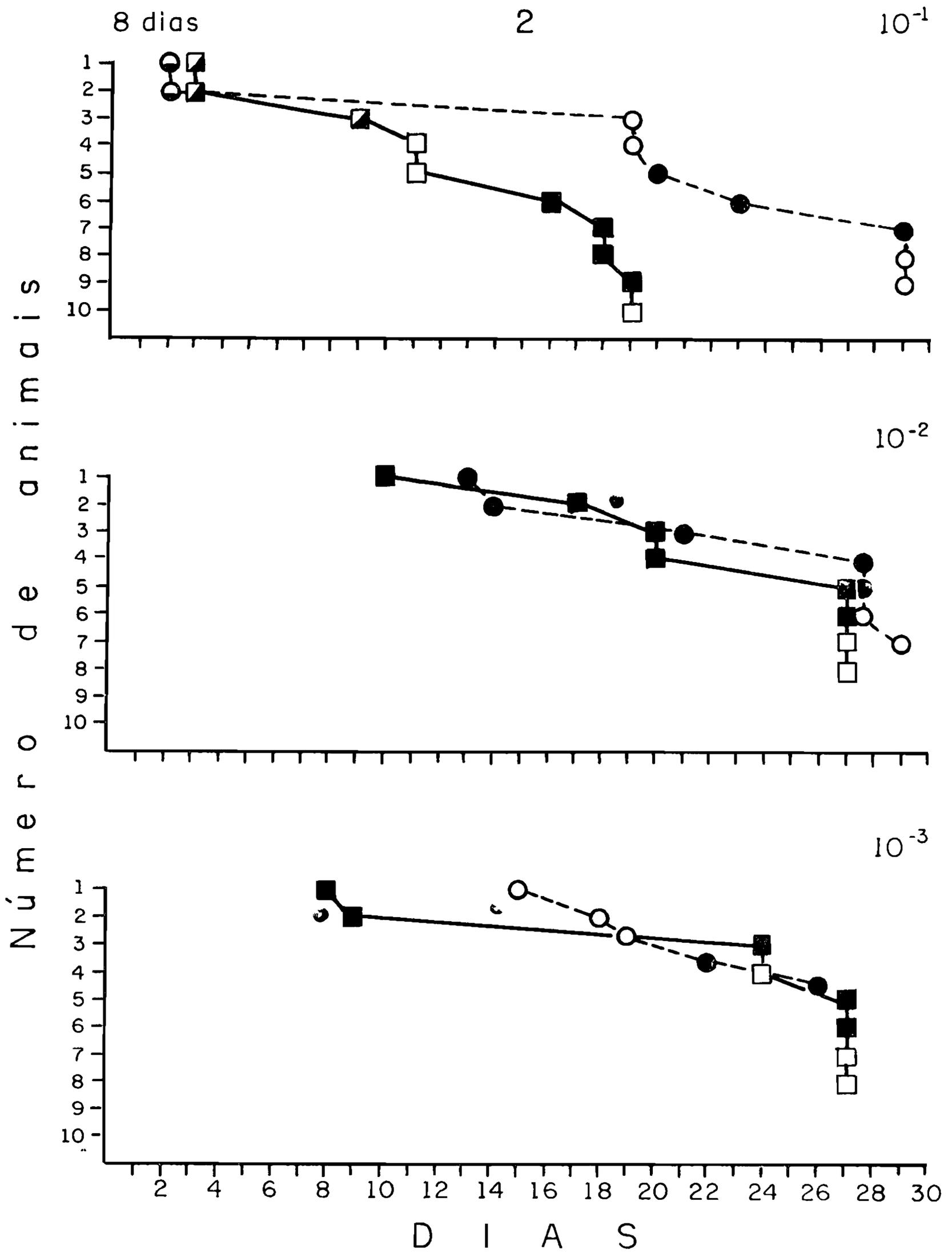


GRÁFICO 3

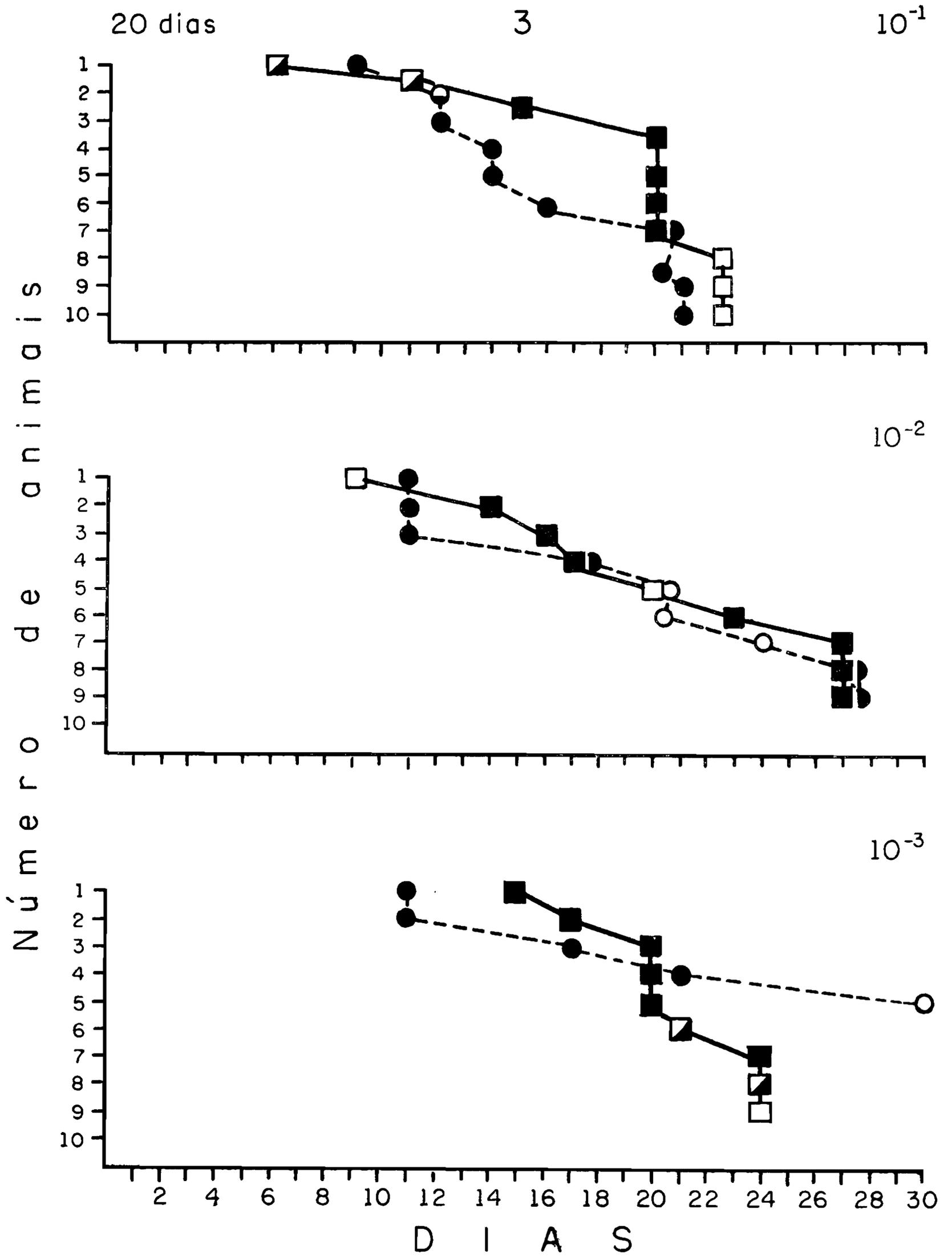


GRÁFICO 4

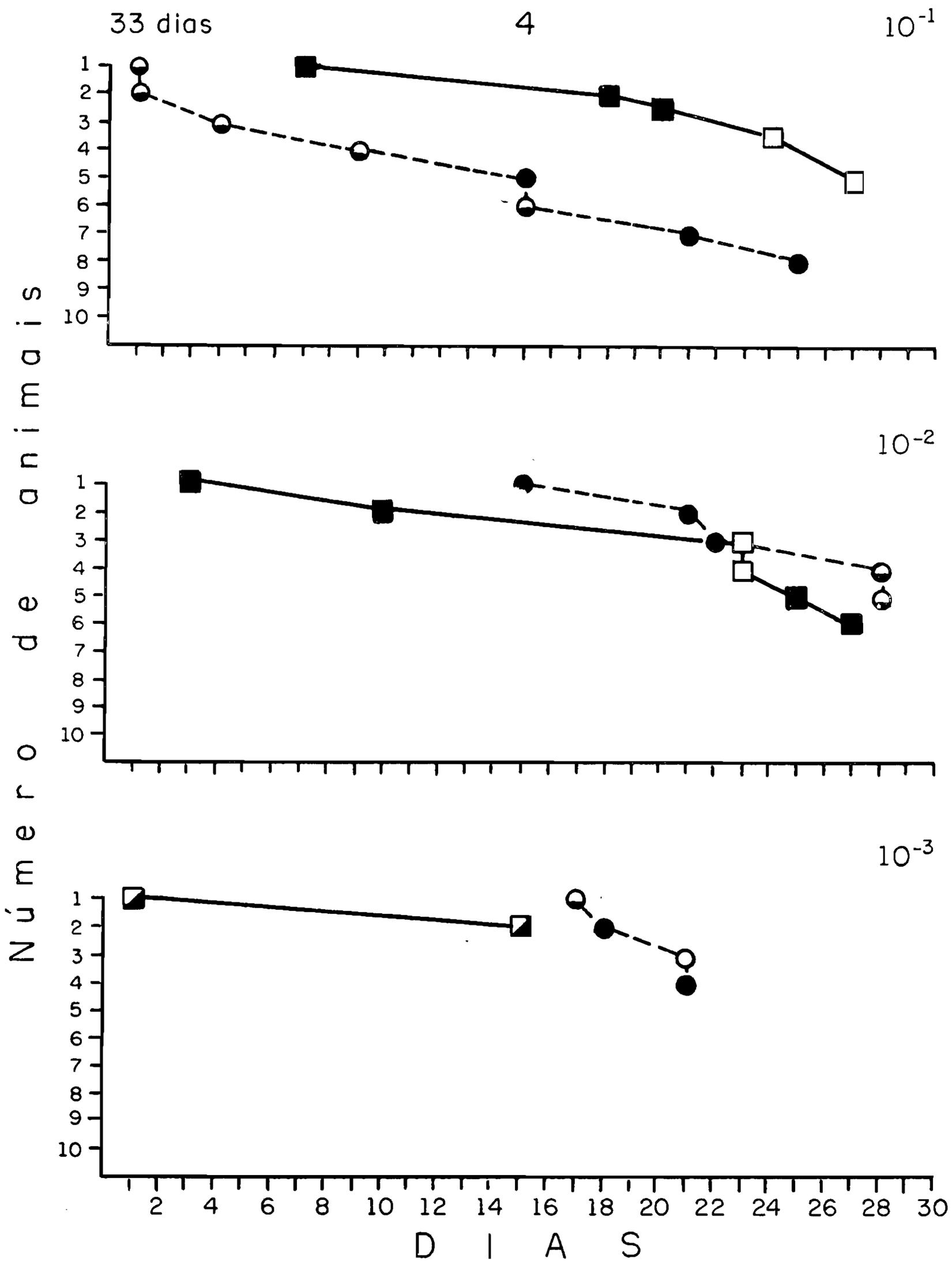


GRÁFICO 5

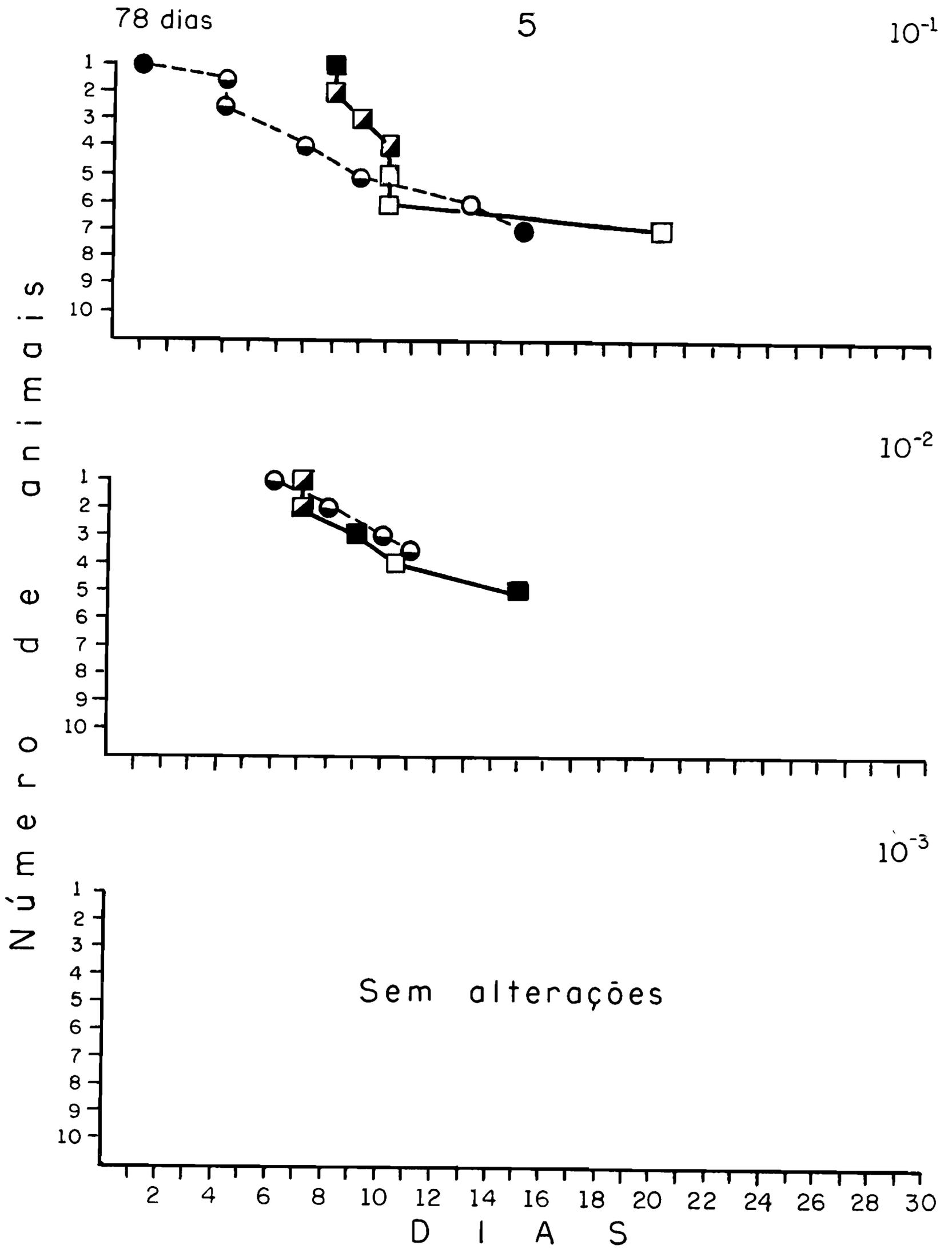


GRÁFICO 6

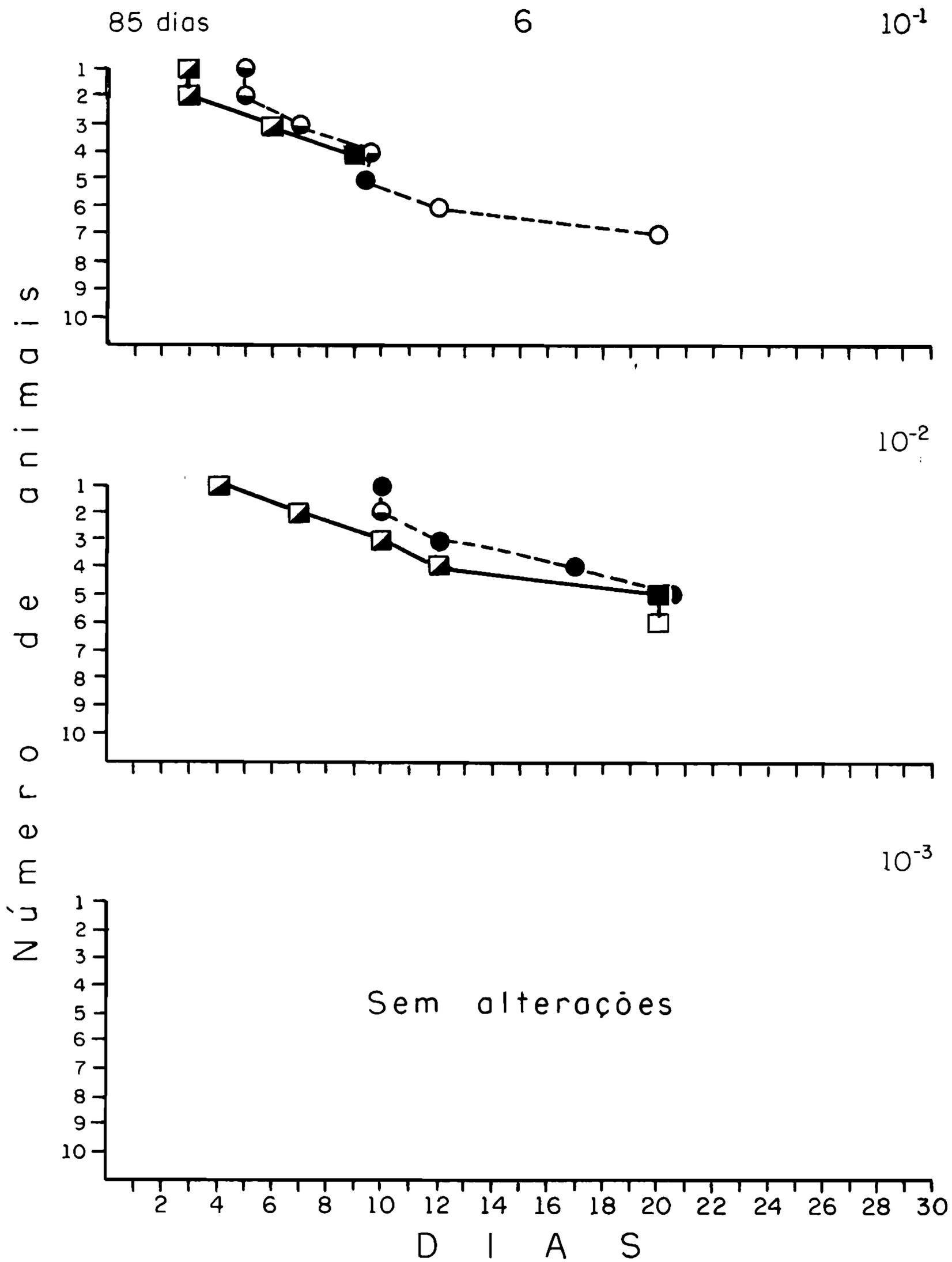


GRÁFICO 7

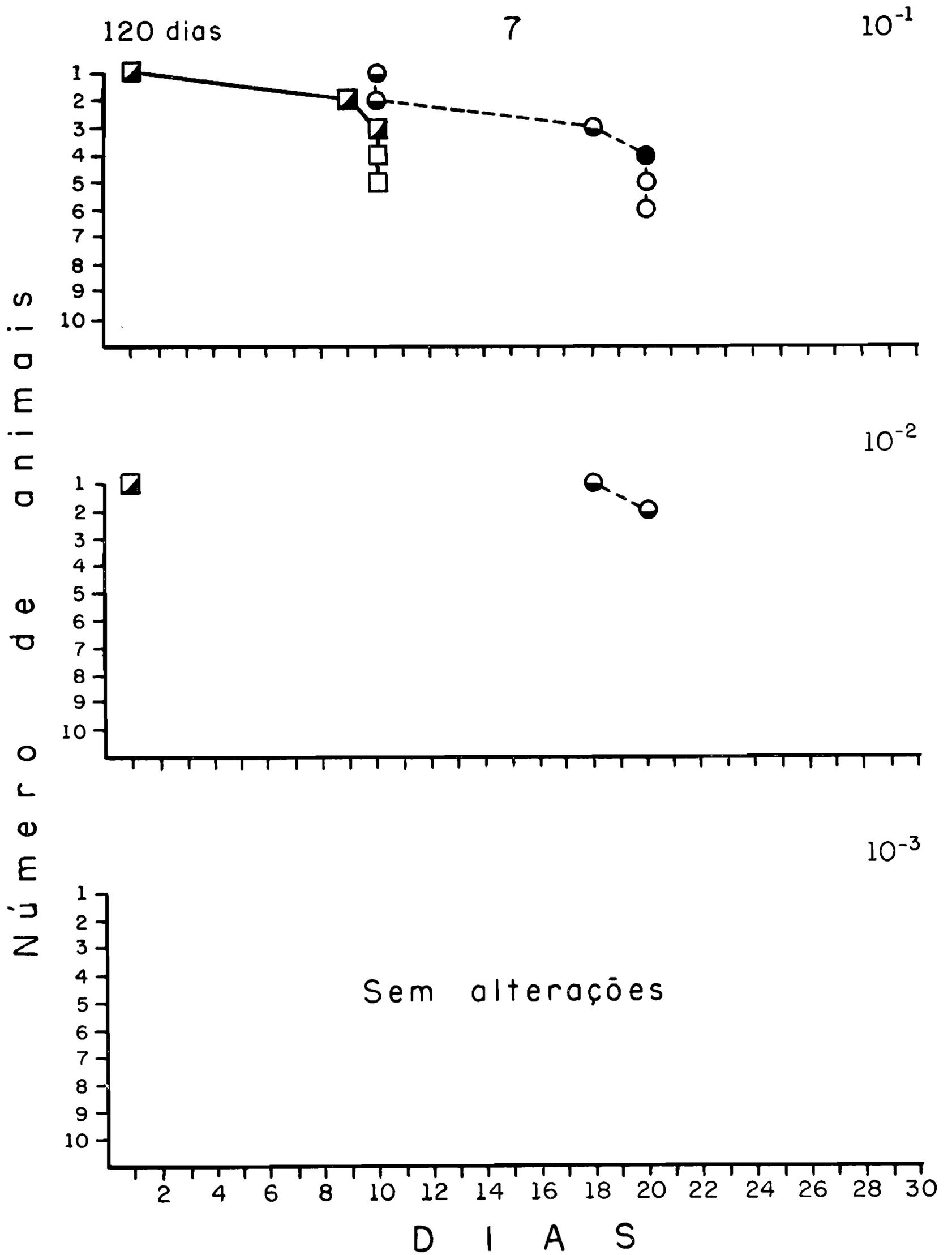


GRÁFICO 8

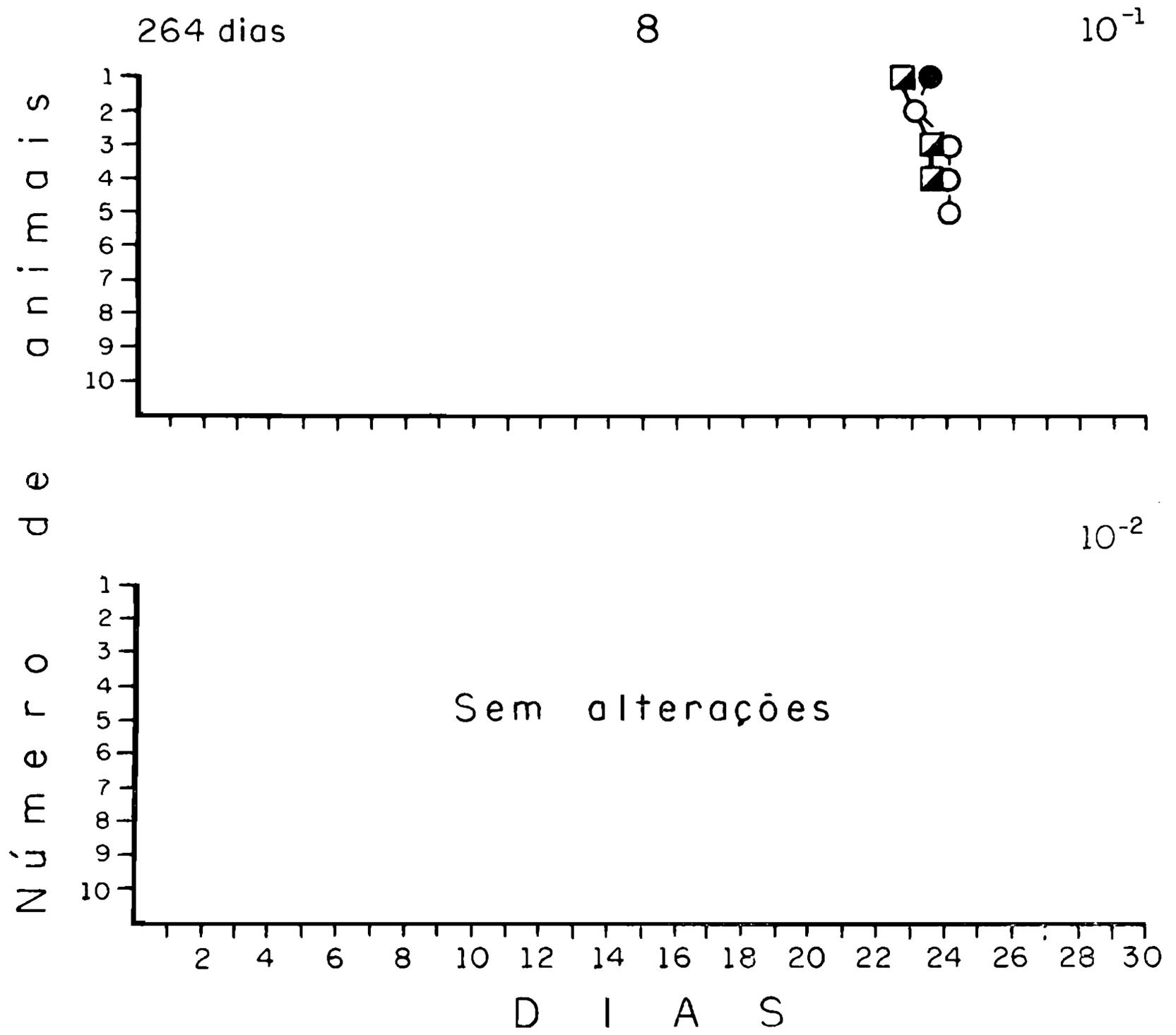


GRÁFICO 9

PODER PATOGÊNICO DO VÍRUS IRRADIADO E DO TESTEMUNHA, NAS DIFERENTES DILUIÇÕES, APÓS NÚMERO VARIÁVEL DE DIAS.

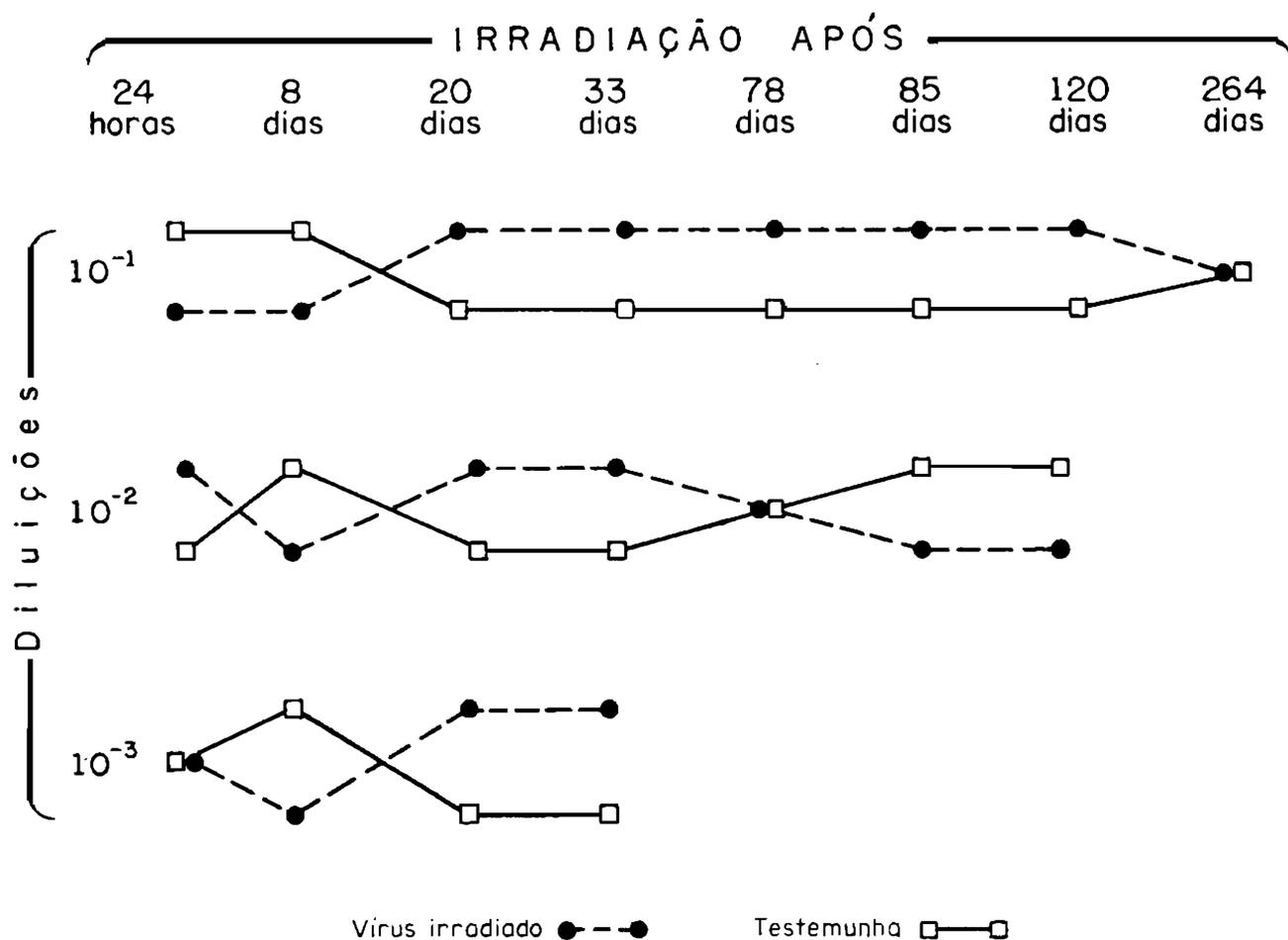
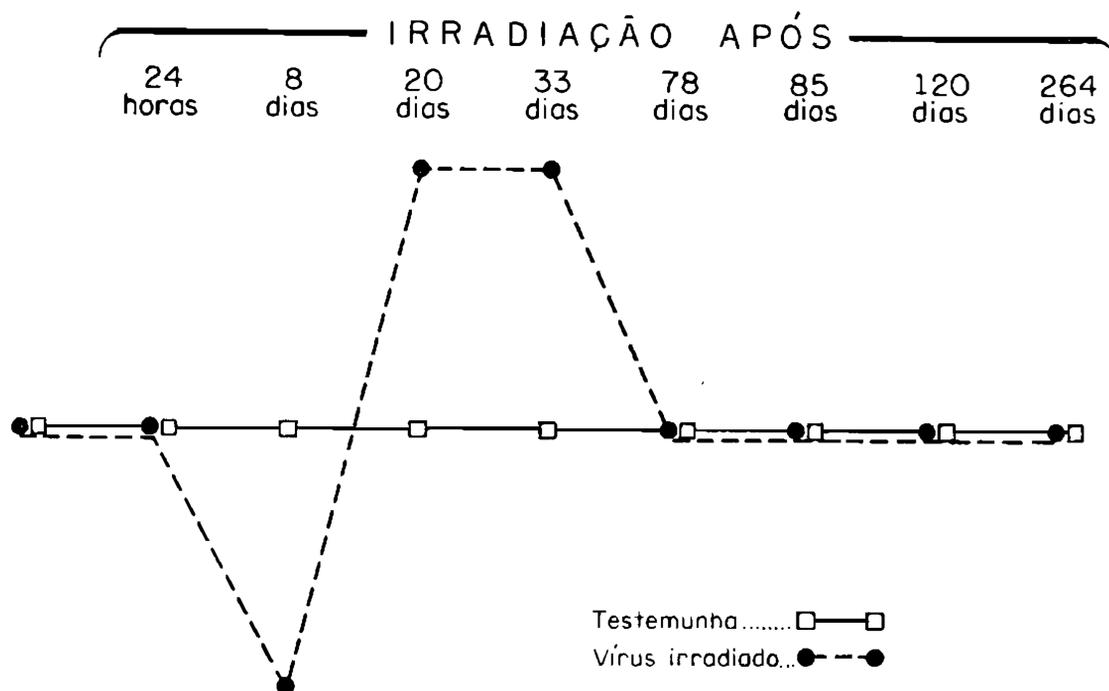


GRÁFICO 10

PODER PATOGÊNICO DO VÍRUS IRRADIADO EM RELAÇÃO COM O TESTEMUNHA



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1953, Influences des rayons X sur le virus de la grippe. *Atti VII Cong. Int. Microb.*, 3: 104.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1954, Ação dos raios X sobre o vírus da gripe. I — Aumento de virulência de suspensões contendo vírus A (PR8). *Hospital*, 45: 145.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1954, Ação dos raios X sobre o vírus da gripe. II — Aumento de virulência de suspensões contendo vírus A (amostra Weiss). *Hospital*, 45: 487.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1954, Ação dos raios X sobre o vírus da gripe. III — Aumento de virulência de suspensões contendo vírus B (amostra Lee). *Hospital*, 45: 779.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1954, Ação dos raios X sobre o vírus da gripe. II — Aumento de virulência de suspensões contendo vírus A primo (Amostra DL do Rio de Janeiro). *Hospital*, 46: 154.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1955, Resistência do vírus da gripe à ação intermitente dos raios X. *Hospital*, 48: 437.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1956, Ação do radium sobre o vírus da gripe. *Hospital*, 50: 819.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1959, Comportamento do vírus da poliomielite após irradiação pelo radium. *Rev. Brasil. Med.*, 16 (4): 247-250.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1959, Ação do radium sobre o vírus da poliomielite. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 57: 83.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1960, Resistência aos Raios X de anticorpos neutralizantes do vírus da gripe. *Hospital*, 58: 341.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1960, Persistência de anticorpos do vírus da gripe após exposição aos raios de Rontgen. (Nota preliminar). *Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro*, 4: 29.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1962, Resistência de hemaglutininas aos Raios X. (nota preliminar). *Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro*, 6: 26.
- LACORTE, J. G., MONTEIRO, E. & LOURES, J. C., 1962, Ação dos raios X sobre hemaglutininas do vírus da gripe. *Brasil-Médico*, 76: 239.