

PROTEÇÃO *IN VITRO* CONFERIDA PELA GAMA-GLOBULINA (1) CONTRA O VIRUS DO SARAMPO

PROTECTION "*IN VITRO*" BY GAMMA GLOBULIN AGAINST THE MEASLES VIRUS

ADELA ROTH (2)
MARTHA IRENA MALACHOWSKA (2)
LUÍS FLORÊNCIO DE SALLES GOMES (2)
CLÉLIA H. O. MARTINEZ (2)

SUMMARY

The gamma globulin obtained from the ISA Laboratory was tested on continuous line of human kidney cells. In experimental conditions the gamma globulin showed a significant protection against measles virus, when used in doses of 0,1 mg per ml, and total protection with 0,2 or 0,3 mg per ml.

INTRODUÇÃO

A gama-globulina tem sido usada^{1, 2, 3, 5, 6, 7} como arma preventiva ou terapêutica em numerosas infecções virais. Particularmente no sarampo, é aconselhável seu uso conjuntamente com a vacinação, tendo em vista amenizar a infecção causada pelo vírus vacinante e suas complicações.

Este trabalho teve como finalidade verificar, em culturas celulares, se a gama-globulina nacional⁽³⁾ oferece proteção contra o vírus de sarampo.

MATERIAL E MÉTODOS

A gama-globulina foi fornecida em forma liofilizada (partida de 15-20/66) em frascos contendo 250 mg de substância. O material foi mantido em temperatura ambiente até a hora de usar.

Células — Foram escolhidas células de rim humano (RH), linhagem contínua, mantidas no laboratório de cultura de tecidos da Seção de Vírus deste Instituto.

Meios — Para o crescimento das células foi usado o meio de Hanks com 20% de soro de vitelo e como meio de manutenção, o de Hanks com 5% de soro de vitelo.

Vírus — Usou-se o vírus sarampo, amostra Edmonston, após 25 passagens nas células RH. O vírus foi titulado em diluições logarítmicas começando da diluição 10^{-1} , usando-se 4 tubos de células para cada diluição; a temperatura de incubação foi a de 35°C e a leitura final foi feita após 6-7 dias. O cálculo do TCD_{50%} foi feito segundo método de REED & MUENCH⁴ e foi igual a $10^{-3,48}$.

Procedimento

A gama-globulina foi dissolvida em meio de manutenção num volume tal cuja concentração final correspondesse a 1 mg/ml. Procedemos à verificação de sua ação de três maneiras diversas: a) inoculamos conjuntamente o vírus mais a gama-globulina nas células, após 1 hora de contacto a 4°C; b) adicionamos gama-globulina às células e, após 24 horas, inoculamos o vírus; c) ino-

(1) Trabalho realizado na Seção de Virus Ectodermotrópicos do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

(3) Fornecida pelo Laboratório ISA (S. Paulo).

culamos o vírus nas células e, após 3 horas, adicionamos gama-globulina.

Nestes procedimentos foram utilizados seis tubos de culturas celulares para cada uma das diferentes quantidades de gama-globulina combinadas com as diversas doses de vírus utilizados. As quantidades de gama-globulina foram: 0,1; 0,2 e 0,3 mg e as doses de vírus, 30; 100 e 300 TCD 50% .

Todos os tubos foram incubados a 35°C e observados diariamente. A leitura final foi feita aos 6-7 dias de incubação, isto é, quando os controles dos vírus demonstravam 75% ou mais de células lesadas pelo ECP (++++ a +++++).

Além dos controles de células e das unidades de vírus usadas, foi controlada a gama-globulina isoladamente nas concentrações usadas, para testar uma eventual ação tóxica.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Observamos que a gama-globulina adicionada 3 horas após a inoculação do vírus não conferiu qualquer proteção às células contra a ação do vírus. A gama-globulina inoculada juntamente com o vírus, após 1 hora de contato a 4°C, ou quando adicionada às células 24 horas antes da inoculação do vírus, comportou-se da mesma maneira, isto é, conferiu uma proteção visível e da mesma intensidade, segundo o demonstra a tabela:

Percentagem de proteção das células pela gama globulina *

Quantidade de gama globulina mg	Unidades de vírus. TDC 50%		
	30	100	300
0,1	75	75	50
0,2	100	100	100
0,3	100	100	100

* Cálculo feito com média de 6 tubos.

Considerando-se 50% ou mais de proteção como dado significativo, podemos concluir que a gama-globulina usada protege significativamente as células dentro das con-

dições experimentais, quando usada nas dosagens de 0,1; 0,2 e 0,3 mg, sendo que 0,2 mg foi a menor quantidade de gama-globulina que deu proteção total às células, mesmo na presença de 300 TCD 50% de vírus de sarampo.

Em experiências preliminares observamos que 0,05 mg de gama-globulina não proporcionou proteção significativa contra a menor dose do vírus usada; por outro lado, foi também observado que 0,4 mg de gama-globulina já acarretava algum efeito tóxico para as células, enquanto que 0,5 mg da substância apresentou efeito tóxico apreciável.

Estes resultados sugerem que a gama-globulina usada protege as culturas celulares de rim humano contra a ação de vírus do sarampo. O mecanismo da proteção, segundo sugestões de vários autores^{1, 2, 3, 7}, deve correr por conta de uma reação antígeno-anticorpo de neutralização que se processa durante o período de incubação ou, ainda, pelo bloqueio dos receptores celulares, pela gama-globulina⁶, quando adicionada às células anteriormente à inoculação do vírus.

RESUMO

A gama-globulina fornecida por um laboratório nacional experimental em culturas celulares de linhagem contínua de rim humano conferiu proteção apreciável contra a ação do vírus do sarampo, em doses de 0,1 mg/ml, e proteção total em doses de 0,2 ou 0,3 mg/ml.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GROSS, P. A. M.; GITLIN, D. & JANEWAY, C. A. — The gamma globulins and their clinical significance. IV. Therapeutic uses of gamma globulins. *New Eng. J. Med.* 260:170-178, 1959.
2. KEMPE, C. H.; BERGE, T. O. & ENGLAND, B. — Hyperimmune vaccinal gamma globulin. Source, evaluation and use in prophylaxis and therapy. *Pediatrics*, N. Y. 18:177-187, 1956.
3. KRUGMAN, S. *et alii* — Infectious hepatitis. Studies on the effect of gamma globulin and on the incidence of inapparent infection. *J. Am. Med. Ass.* 174:823-830, 1960.

ROTH, A.; MALACHOWSKA, M. I.; SALLES GOMES, L. F.; MARTINEZ, C. H. — Proteção "in vitro" conferida pela gama-globulina contra o vírus do sarampo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 25/27:119-121, 1965/67.

4. REED, L. J. & MUENCH, H. — A simple method of estimating fifty per cent end points. Amer. J. Hyg. 27:493-497, 1938.
5. RHODES, A. J. & Van ROOYEN, C. E. — Textbook of virology for students and practitioners of medicine. 4th. ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1962.
6. STOKES, J., Jr., *et alii* — Length of protection by immune serum globulin (gamma globulin) during epidemics. J. Am. Med. Ass. 147:714-719, 1951.
7. STOKES, J., Jr. — Immunisation in viral hepatitis. J. Am. Med. Ass. 172:652-655, 1960.

Recebido para publicação em 29 de junho de 1967