

PROLONGADA PERSISTÊNCIA DO VÍRUS DA GRIPE EM HAMSTERS INOCULADOS POR VIAS PARENTERAIS E NASAL¹

J. GUILHERME LACORTE *

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

SUMÁRIO: As experiências relatadas no presente trabalho visaram observar a persistência do vírus da gripe em hamsters inoculados pelas vias subcutânea, peritoneal e nasal. Usaram-se 53 hamsters na verificação da persistência do vírus nos seus organismos a qual atingiu até um ano e cinco meses, pelo menos, numa das séries de experiências. A outra parte do trabalho consistiu em verificar a passagem do vírus, em série, de hamster a hamster. Observamos-a até o máximo de nove vezes, o que foi excepcional, notando-se passagens, na série, com resultados negativos intercalados. Para esta última parte foram usados 91 hamsters, perfazendo o total de 144 em todas as experiências realizadas.

ASSINALAMOS, anteriormente, (1, 2) a persistência do vírus da gripe em camundongos, em comunicações feitas no IX Congresso Internacional de Microbiologia, realizado em Moscou em 1966 e à Sociedade de Biologia de Paris em 1967. No ano seguinte apresentamos nova comunicação (3) nos Oitavos Congressos Internacionais de Medicina Tropical e Malária, reunidos em Teerã. Nas publicações seguintes, de 1970 (4,5), fizemos idêntica observação em coelhos. Nestes animais e no hamster sírio (6) havíamos observado que o vírus pode transmitir-se congenitamente em 15 a 22% dos casos, conforme a espécie. A seguir, passamos a observar o tempo de persistência do referido vírus

no hamster sírio, assim como a sua passagem de hamster a hamster, assuntos da presente publicação.

MATERIAL E MÉTODOS

1. O vírus da gripe usado no presente trabalho foi o mesmo que nos tem servido para os anteriores, isto é, pertence ao tipo A, amostra PR8 e existe em nosso laboratório do Instituto Oswaldo Cruz desde 1944, quando o recebemos do Instituto Rockefeller de Nova York (hoje Universidade Rockefeller). Tem sido mantido em passagens sucessivas em camundongos brancos e ovos embrionados de galinha. As utilizadas nas experiências que ora relatamos correspondem às passagens em camundongos do número 669 ao 825. O seu título $DL_{50} = 10^{-4}$ foi mantido no decorrer das experiências.

1 Recebido para publicação a 28 de junho de 1973.

* Chefe do Laboratório Regional da OMS para o Estudo da Gripe, sediado no Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Microbiologia e Imunologia.

2. Os animais utilizados foram camundongos brancos da criação do Instituto Oswaldo Cruz, de 3 semanas de idade. As inoculações foram feitas por via nasal após anestesia do animal pelo éter. Os hamsters (*Mesocricetus auratus*) foram da criação do nosso laboratório no mesmo Instituto, inoculados por via subcutânea, peritoneal ou nasal. Tinham, em média 140 g de peso e 4 a 10 meses de idade.

3. O material a inocular, para a execução das experiências, foi obtido de pulmões de camundongos inoculados 3 a 4 dias antes. Estes órgãos mostravam focos de congestão ou hepatização múltiplos ou muito acentuados, o que é comum observar-se. Depois de retirados os pulmões foram os mesmos pesados e triturados no gral, com alundum, juntando-se a solução fisiológica na proporção de 10,0 ml por 1 g dos órgãos. A seguir centrifugou-se a mistura a 3.000 r.p.m., durante 5 minutos, retirando-se o líquido sobrenadante pronto para ser inoculado. A tentativa de isolamento do vírus dos hamsters inoculados foi feita a partir de vários órgãos misturados (pulmões, fígado, baço, rins e coração) e logo após ter sido sacrificado o animal por meio de sangria, aproveitando-se também o sangue nas inoculações.

4. Os grupos de animais foram distribuídos de acordo com a via de inoculação. Por via subcutânea, foi inoculado 1,0 ml da diluição a 1:100, na região abdominal desinfetando-se o local com tintura de iodo; por via peritoneal foi inoculado 1,0 ml da diluição a 1:100 na região abdominal, pouco abaixo da região hepática, desinfetando-se o local com tintura de iodo; por via nasal foi a mesma suspensão inoculada na dose de 0,2 ml, após anestesia do animal pelo éter.

5. Todas as séries de experiências foram acompanhadas de 5 camundongos testemunhas para cada grupo de inoculações com o material contendo vírus, a fim de certificar-se a sua presença. Número igual de animais testemunhas inoculados com material de camundongos normais. Além destes, fizemos inoculação de material colhido de pulmões de 100 camundongos de idade variável de 3 semanas a 3 meses, cada um em

5 camundongos de 3 semanas, por via nasal, a fim de afastar a possibilidade de contaminações.

6. A inoculação em embriões de galinha de 11 dias de idade foi feita segundo a técnica que usamos injetando 0,2 ml do mesmo material que se inoculou nos camundongos, diretamente na cavidade alantóide, através da câmara de ar. A presença do vírus foi assinalada pela hemaglutinação observada em placas de Petri com as hemácias do próprio embrião em contato com o seu líquido cório-alantóide.

7. As fichas de números 848 e 1.273 correspondem às inoculações de hamsters. As fichas de números 11.860 a 12.722 correspondem às inoculações de camundongos.

RESULTADOS

Experiências realizadas:

A primeira série de experiências foi feita inoculando-se 2 hamsters por via nasal. Um deles foi sacrificado 14 dias após e, o segundo, 16 dias após o mesmo, a fim de verificarmos a persistência do vírus no seu sangue e diferentes órgãos. Obtivemos os seguintes resultados conforme o protocolo das inoculações:

- 20-10-69 — Ficha n.º 851 — Foram inoculados 2 hamsters.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.860 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado do sangue.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.861 — Vírus isolado dos pulmões.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.862 — Vírus isolado do coração.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.863 — Vírus isolado do fígado.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.864 — Vírus isolado dos rins.
- 4-11-69 — Ficha n.º 11.865 — Vírus não isolado do baço.
- 20-11-69 — Ficha n.º 11.873 — Sacrificado o segundo hamster. Vírus isolado do sangue.

- 20-11-69 — Ficha n.º 11.874 — Vírus isolado do fígado.
 20-11-69 — Ficha n.º 11.875 — Vírus isolado dos rins.
 20-11-69 — Ficha n.º 11.877 — Vírus isolado dos pulmões.

Observamos que o vírus persistiu em diferentes órgãos do hamster até 30 dias após a inoculação por via nasal, tendo-se feito uma primeira verificação intermediária. Somente 1 vez e após 14 dias o vírus não foi isolado do baço.

A segunda série de experiências foi feita empregando-se grupos de 7 hamsters inoculados por via peritoneal, subcutânea e nasal, sacrificando-se 1 animal de tempos em tempos a fim de verificarmos a persistência do vírus.

Obtivemos os seguintes resultados de acordo com o protocolo das inoculações:

Via peritoneal

- 24-11-69 — Ficha n.º 848 — Inoculados 7 hamsters.
 25-11-69 — Ficha n.º 11.886 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 11-12-69 — Ficha n.º 11.888 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 8-1-70 — Ficha n.º 11.912 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 28-1-70 — Ficha n.º 11.917 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 27-2-70 — Ficha n.º 11.930 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-5-70 — Ficha n.º 11.987 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-8-70 — Ficha n.º 12.048 — Sacrificado o último hamster. Vírus não isolado.

Via subcutânea

- 24-11-69 — Ficha n.º 849 — Foram inoculados 7 hamsters.
 25-11-69 — Ficha n.º 11.887 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 11-12-69 — Ficha n.º 11.891 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-1-70 — Ficha n.º 11.911 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 28-1-70 — Ficha n.º 11.918 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 27-2-70 — Ficha n.º 11.931 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-5-70 — Ficha n.º 11.985 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 4-8-70 — Ficha n.º 12.049 — Sacrificado o último hamster. Vírus não isolado.

Via nasal

- 24-11-69 — Ficha n.º 850 — Foram inoculados 7 hamsters.
 25-11-69 — Ficha n.º 11.885 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 1-12-69 — Ficha n.º 11.889 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-1-70 — Ficha n.º 11.910 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 28-1-70 — Ficha n.º 11.919 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 27-2-70 — Ficha n.º 11.932 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 4-5-70 — Ficha n.º 11.986 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-8-70 — Ficha n.º 12.047 — Sacrificado o último hamster. Vírus isolado.

Observamos que o vírus persistiu no organismo do hamster pelo menos durante 5 meses e 18 dias, quando se fez inoculação por via peritoneal. No intervalo das verificações o vírus não foi isolado 2 vezes. Quando se usou a via subcutânea o vírus persistiu pelo menos durante 3 meses e 3 dias. No

intervalo não se isolou 1 vez. Nos inoculados por via nasal, o vírus persistiu pelo menos durante 2 meses e 4 dias.

A terceira série de experiências foi feita empregando-se grupos de 10 hamsters inoculados por via peritoneal, subcutânea e nasal, sacrificando-se 1 animal de tempos em tempos a fim de verificarmos a duração da infecção latente com a presença do vírus.

Obtivemos os seguintes resultados de acordo com os protocolos das inoculações:

Via peritoneal

- 9-6-70 — Foram inoculados 10 hamsters.
 18-9-70 — Ficha n.º 12.078 — Sacrificado 1 hamster. Vírus não isolado.
 28-9-70 — Ficha n.º 12.082 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 5-10-70 — Ficha n.º 12.086 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 27-10-70 — Ficha n.º 12.165 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 5-4-71 — Ficha n.º 12.240 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-6-71 — Ficha n.º 12.291 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 24-9-71 — Ficha n.º 12.341 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-11-71 — Ficha n.º 12.355 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-1-72 — Ficha n.º 12.363 — Sacrificado o último hamster. Vírus não isolado.

Via subcutânea

- 9-6-70 — Ficha n.º 911 — Foram inoculados 10 hamsters.
 19-9-70 — Ficha n.º 12.079 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 19-10-70 — Ficha n.º 12.079 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 27-10-70 — Ficha n.º 12.097 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.

- 9-11-70 — Ficha n.º 12.114 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 23-12-70 — Ficha n.º 12.164 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 2-2-71 — Ficha n.º 12.193 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 5-4-71 — Ficha n.º 12.242 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-6-71 — Ficha n.º 12.292 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 24-9-71 — Ficha n.º 12.342 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-10-71 — Ficha n.º 12.352 — Sacrificado o último hamster. Vírus não isolado.

Via nasal

- 9-6-70 — Ficha n.º 912 — Foram inoculados 10 hamsters.
 18-9-70 — Ficha n.º 12.080 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 19-10-70 — Ficha n.º 12.092 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 23-12-70 — Ficha n.º 12.166 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 2-2-71 — Ficha n.º 12.192 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 5-4-71 — Ficha n.º 12.241 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 6-6-71 — Ficha n.º 12.293 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 24-9-71 — Ficha n.º 12.343 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 8-11-71 — Ficha n.º 12.356 — Sacrificado 1 hamster. Vírus isolado.
 4-11-72 — Ficha n.º 12.362 — Sacrificado o último hamster. Vírus não isolado.

Observamos, portanto, que o vírus persistiu no organismo do hamster pelo menos durante 515 dias quando inoculado por via peritoneal, durante 470 dias pelo menos quando pela via subcutânea e durante 515 dias pelo menos quando pela via nasal. Cumpre ainda assinalar que houve resultados negativos a que se seguiram positivos. Na inoculação da via peritoneal o iso-

lamento foi negativo após 24 horas seguindo-se positivos, até 132 dias quando foi negativo seguindo-se positivos, sendo negativos, novamente, após 297 dias seguindo-se positivos (3 falhas intercaladas em 10). Na inoculação por via subcutânea o isolamento foi negativo após 132 dias seguidos de positivos (1 falha em 10). Na inoculação por via nasal não houve resultados negativos intermediários.

Com a quarta série de experiências iniciamos as passagens de hamster a hamster:

Via peritoneal

- 19-4-71 — Ficha n.º 1.012 — Hamster inoculado.
- 22-4-71 — Ficha n.º 12.248 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 22-4-71 — Ficha n.º 1.015 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.012).
- 3-5-71 — Ficha n.º 12.270 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 3-5-71 — Ficha n.º 1.019 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.015).
- 18-5-71 — Ficha n.º 12.275 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 18-5-71 — Ficha n.º 1.027 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (Ficha n.º 1.019).
- 25-5-71 — Ficha n.º 12.282 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 25-5-71 — Ficha n.º 1.032 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.027).
- 31-5-71 — Ficha n.º 12.289 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- O vírus foi isolado em passagens do primeiro ao segundo hamster e, deste, ao terceiro, de 19-4-71 a 3-5-71. Foram feitas mais duas passagens com resultados negativos.
- Na quinta série de experiências foram feitas passagens de hamster a hamster em maior número:
- 19-4-71 — Ficha n.º 1.013 — Hamster inoculado.
- 22-4-71 — Ficha n.º 12.247 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 22-4-71 — Ficha n.º 114 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.013).
- 29-4-71 — Ficha n.º 12.252 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 29-4-71 — Ficha n.º 1.018 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.014).
- 4-5-71 — Ficha n.º 12.256 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 4-5-71 — Ficha n.º 1.020 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.018).
- 11-5-71 — Ficha n.º 12.271 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 11-5-71 — Ficha n.º 1.025 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.020).
- 18-5-71 — Ficha n.º 12.277 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 18-5-71 — Ficha n.º 1.029 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.025).
- 25-5-71 — Ficha n.º 12.284 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 25-5-71 — Ficha n.º 1.034 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.029).
- 31-5-71 — Ficha n.º 12.288. Vírus não isolado.

O vírus foi isolado em passagens do primeiro ao segundo hamster e, deste, ao terceiro, de 19-4-71 a 4-5-71. Foram feitas mais três passagens com resultados negativos.

Na sexta série de experiências foram feitas, ainda, passagens de hamster a hamster, com intervalos diferentes:

- 26-4-71 — Ficha n.º 1.016 — Hamster inoculado com material do hamster de ficha n.º 1.012.
- 4-5-71 — Ficha n.º 12.250 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 4-5-71 — Ficha n.º 1.021 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.016).
- 11-5-71 — Ficha n.º 12.257 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 11-5-71 — Ficha n.º 1.013 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.012).
- 18-5-71 — Ficha n.º 12.269 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 18-5-71 — Ficha n.º 1.028 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.023).
- 25-5-71 — Ficha n.º 12.276 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 25-5-71 — Ficha n.º 1.033 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.028).
- 31-5-71 — Ficha n.º 12.283 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

O vírus foi isolado na passagem do primeiro ao segundo hamster. Não isolado na passagem do segundo para o terceiro mas isolado na passagem do terceiro para o quarto. Foram feitas mais duas passagens com resultados negativos.

Na sétima série de experiências continuou-se a passagem de hamster a hamster:

- 4-5-71 — Ficha n.º 1.017 — Hamster inoculado com material do hamster da ficha n.º 1.013.
- 11-5-71 — Ficha n.º 12.258 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 11-5-71 — Ficha n.º 1.022 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.017).
- 18-5-71 — Ficha n.º 12.272 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 18-5-71 — Ficha n.º 1.026 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.022).
- 28-5-71 — Ficha n.º 1.030 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.026).
- 31-5-71 — Ficha n.º 12.281 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 31-5-71 — Ficha n.º 1.031 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.030).
- 5-6-71 — Ficha n.º 12.286 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

O vírus não foi isolado em passagem do primeiro ao segundo hamster. Foi isolado na passagem deste para o terceiro e não isolado deste para o quarto.

Na oitava série de experiências: passagens de hamster a hamster:

- 19-4-71 — Ficha n.º 1.035 — Hamster inoculado com material do hamster da ficha n.º 1.013.
- 9-6-71 — Ficha n.º 12.294 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 9-6-71 — Ficha n.º 1.037 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.035).

- 15-6-71 — Ficha n.º 12.298 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 15-6-71 — Ficha n.º 1.039 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.037).
- 21-6-71 — Ficha n.º 12.301 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 21-6-71 — Ficha n.º 1.039 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.037).
- 28-6-71 — Ficha n.º 12.301 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 28-6-71 — Ficha n.º 1.041 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.039).
- 5-7-71 — Ficha n.º 12.303 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 5-7-71 — Ficha n.º 1.043 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.041).
- 13-7-71 — Ficha n.º 12.308 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 13-7-71 — Ficha n.º 1.045 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.043).
- 20-7-71 — Ficha n.º 12.311 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 20-7-71 — Ficha n.º 1.048 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.045).
- 26-7-71 — Ficha n.º 12.316 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 26-7-71 — Ficha n.º 1.050 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.048).
- 2-8-71 — Ficha n.º 12.320 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

O vírus foi isolado na passagem do primeiro para o segundo hamster, não isolado na passagem deste para o

terceiro, isolado na passagem deste para o quarto, isolado na passagem deste para o quinto, não isolado deste para o sexto, isolado deste para o sétimo, não isolado deste para o oitavo, isolado deste para o nono e não isolado deste para o décimo.

Na nona série de experiências: passagem de hamster a hamster:

- 9-6-71 — Ficha n.º 1.036 — Hamster inoculado com material do hamster da ficha n.º 1.012.
- 15-6-71 — Ficha n.º 12.295 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 15-6-71 — Ficha n.º 1.038 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.036).
- 21-6-71 — Ficha n.º 12.299 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 21-6-71 — Ficha n.º 1.040 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.038).
- 28-6-71 — Ficha n.º 12.302 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 28-6-71 — Ficha n.º 1.042 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.040).
- 5-7-71 — Ficha n.º 12.304 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 5-7-71 — Ficha n.º 1.044 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.042).
- 13-7-71 — Ficha n.º 12.309 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 13-7-71 — Ficha n.º 1.046 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.044).
- 20-7-71 — Ficha n.º 12.312 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 20-7-71 — Ficha n.º 1.047 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.046).

- 26-7-71 — Ficha n.º 12.315 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
 26-7-71 — Ficha n.º 1.049 — Hamster inoculado com material do hamster anterior (ficha n.º 1.047).
 2-8-71 — Ficha n.º 12.319 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

O vírus não foi isolado na passagem do primeiro para o segundo hamster, foi isolado na passagem do segundo ao terceiro e deste para o quarto, não isolado deste ao quinto, isolado deste ao sexto, não isolado deste ao sétimo, isolado deste ao oitavo e não isolado deste ao nono.

Na décima série de experiências: passagem de hamster a hamster:

- 24-10-72 — Ficha n.º 1.186 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.169.
 30-10-72 — Ficha n.º 12.622 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
 24-10-72 — Ficha n.º 1.187 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster ficha n.º 1.169.
 30-10-72 — Ficha n.º 1.195 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.186.
 6-11-72 — Ficha n.º 12.633 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
 30-10-72 — Ficha n.º 1.199 — Hamster inoculado com material colhido dos órgãos do hamster ficha n.º 1.186.
 6-11-72 — Ficha n.º 12.634 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
 6-11-72 — Ficha n.º 1.214 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.195.
 13-11-72 — Ficha n.º 12.653 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

- 6-11-72 — Ficha n.º 1.215 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster ficha n.º 1.199.
 13-11-72 — Ficha n.º 12.654 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
 13-11-72 — Ficha n.º 1.237 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.214.
 20-11-72 — Ficha n.º 1.238 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster ficha n.º 1.215.
 20-11-72 — Ficha n.º 12.681 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
 20-11-72 — Ficha n.º 1.264 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.237.
 25-11-72 — Ficha n.º 12.702 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
 6-11-72 — Ficha n.º 1.220 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster ficha n.º 1.194.
 13-11-72 — Ficha n.º 12.659 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

Na primeira passagem o vírus foi isolado dos pulmões. Na segunda passagem o vírus foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na terceira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na quarta passagem o vírus não foi isolado dos pulmões nem de órgãos. Na quinta passagem foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na sexta passagem não foi isolado dos pulmões nem de órgãos. Na sétima, oitava, nona, décima, décima primeira e décima segunda passagens o vírus não foi isolado.

Na décima primeira série de experiências: passagens de hamster a hamster:

- 16-10-72 — Ficha n.º 1.172 — Hamster inoculado.
- 20-10-72 — Ficha n.º 12.606 — Sacrificado o animal. Vírus isolado dos pulmões.
Ficha n.º 12.607 — Vírus isolado de órgãos.
- 20-10-72 — Ficha n.º 1.173 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos, inclusive pulmões, do hamster anterior, ficha n.º 1.172.
- 26-10-72 — Ficha n.º 12.610 — Sacrificado o animal. Vírus isolado dos pulmões.
- 26-10-72 — Ficha n.º 12.612. Vírus isolado de órgãos.
- 26-10-72 — Ficha n.º 1.192 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.173.
- 1-11-72 — Ficha n.º 12.628 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 26-10-72 — Ficha n.º 1.193 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.173.
- 1-11-72 — Ficha n.º 16.629 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 1-11-72 — Ficha n.º 1.208 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.193.
- 8-11-72 — Ficha n.º 12.639 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 1-11-72 — Ficha n.º 1.209 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.193.
- 8-11-72 — Ficha n.º 12.639 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 1-11-72 — Ficha n.º 1.209 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.193.
- 8-11-72 — Ficha n.º 12.647 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 8-11-72 — Ficha n.º 1.227 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.208.
- 16-11-72 — Ficha n.º 1.228 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.208.
- 16-11-72 — Ficha n.º 12.669 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 16-11-72 — Ficha n.º 1.249 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.227.
- 22-11-72 — Ficha n.º 12.693 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 16-11-72 — Ficha n.º 1.250 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.227.
- 22-11-72 — Ficha n.º 12.694 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 22-11-72 — Ficha n.º 1.270 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.249.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.719 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 22-11-72 — Ficha n.º 1.271 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.249.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.720 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

Na primeira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na segunda passagem o vírus foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na terceira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e não isolado dos órgãos. Na quarta, quinta, sexta e sétima passagens o vírus não foi isolado.

Na décima segunda série de experiências: passagem de hamster a hamster:

- 19-10-72 — Ficha n.º 1.170 — Hamster inoculado.
- 25-10-72 — Ficha n.º 12.604 — Sacrificado o animal. Vírus isolado dos pulmões.
- 25-10-72 — Ficha n.º 12.605 — Vírus isolado dos órgãos.
- 25-10-72 — Ficha n.º 1.171 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos, inclusive pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.170.
- 31-10-72 — Ficha n.º 12.606 — Sacrificado o animal. Vírus isolado de órgãos.
- 31-10-72 — Ficha n.º 12.607 — Vírus isolado dos pulmões.
- 31-10-72 — Ficha n.º 1.188 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.171.
- 7-11-72 — Ficha n.º 12.626 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 31-10-72 — Ficha n.º 1.191 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.171.
- 7-11-72 — Ficha n.º 12.627 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 3-11-72 — Ficha n.º 1.205 — Hamster inoculado com os pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.188.
- 7-11-72 — Ficha n.º 12.643 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 3-7-72 — Ficha n.º 1.204 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.188.
- 7-11-72 — Ficha n.º 12.644 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 7-11-72 — Ficha n.º 1.223 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.204.
- 14-11-72 — Ficha n.º 12.662 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 7-11-72 — Ficha n.º 1.224 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.204.
- 14-11-72 — Ficha n.º 12.663 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 21-11-72 — Ficha n.º 1.243 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.223.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.687 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 21-11-72 — Ficha n.º 1.244 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.223.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.688 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

Na primeira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e órgãos. Na segunda passagem o vírus foi isolado dos pulmões e dos órgãos. Na terceira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e não dos órgãos. Na quarta, quinta e sexta passagens, o vírus não foi isolado.

Na décima terceira série de experiências: passagem de hamster a hamster:

- 23-10-72 — Ficha n.º 1.174 — Hamster inoculado.
- 30-10-72 — Ficha n.º 12.608 — Sacrificado o animal. Vírus isolado dos pulmões.
- 30-10-72 — Ficha n.º 12.609 — Vírus não isolado de órgãos.
- 30-10-72 — Ficha n.º 1.202 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.174.
- 6-11-72 — Ficha n.º 12.632 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

- 30-10-72 — Ficha n.º 1.203 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.174.
- 6-11-72 — Ficha n.º 12.631 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 6-11-72 — Ficha n.º 1.216 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.202.
- 13-11-72 — Ficha n.º 12.655 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 6-11-72 — Ficha n.º 1.217 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.202.
- 13-11-72 — Ficha n.º 12.656 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 13-11-72 — Ficha n.º 1.235 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.216.
- 20-11-72 — Ficha n.º 12.678 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 13-11-72 — Ficha n.º 1.236 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos de hamster anterior, ficha n.º 1.216.
- 20-11-72 — Ficha n.º 12.679 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 20-11-72 — Ficha n.º 1.266 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.235.
- 27-11-72 — Ficha n.º 12.704 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 20-11-72 — Ficha n.º 1.267 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.235.
- 27-11-72 — Ficha n.º 12.705 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

Na primeira passagem o vírus foi isolado dos pulmões e de órgãos. Na

segunda, terceira, quarta e quinta passagens o vírus não foi isolado.

Na décima quarta série de experiências: passagem de hamster a hamster:

- 6-10-72 — Ficha n.º 1.180 — Hamster inoculado.
- 26-10-72 — Ficha n.º 1.181 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.180.
- 11-11-72 — Ficha n.º 12.614 — Sacrificado o animal. Vírus isolado.
- 26-10-72 — Ficha n.º 1.182 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.180.
- 1-11-72 — Ficha n.º 12.615 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 1-11-72 — Ficha n.º 1.210 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.181.
- 8-11-72 — Ficha n.º 12.648 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 1-11-72 — Ficha n.º 1.211 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.181.
- 8-11-72 — Ficha n.º 12.649 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 8-11-72 — Ficha n.º 1.229 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.210.
- 16-11-72 — Ficha n.º 12.670 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 8-11-72 — Ficha n.º 1.230 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.210.
- 16-11-72 — Ficha n.º 12.671 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 16-11-72 — Ficha n.º 1.247 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.229.

- 22-11-72 — Ficha n.º 12.691 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 16-11-72 — Ficha n.º 1.248 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.229.
- 22-11-72 — Ficha n.º 12.692 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 22-11-72 — Ficha n.º 1.272 — Hamster inoculado com material colhido dos pulmões do hamster anterior, ficha n.º 1.247.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.721 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.
- 22-11-72 — Ficha n.º 1.273 — Hamster inoculado com material colhido de órgãos do hamster anterior, ficha n.º 1.247.
- 28-11-72 — Ficha n.º 12.722 — Sacrificado o animal. Vírus não isolado.

O vírus foi isolado na primeira passagem dos pulmões e não isolado na de órgãos. Não foi isolado da segunda à quinta passagens.

DISCUSSÃO

O hamster sírio (*Mesocricetus auratus*) tem sido animal de uso limitado no estudo do vírus da gripe. É considerado insensível ou quase àquele vírus. Observou-se, no entanto, que poderá abrigá-lo durante horas ou alguns dias, na sua mucosa nasal, quando nela depositado. As inoculações por outras vias não têm sido habitualmente feitas. Tomando por base os nossos trabalhos anteriores, já referidos, julgamos de interesse verificar o tempo de persistência do vírus no organismo do hamster inoculado por diferentes vias, além da sua passagem de hamster a hamster. Logo na primeira série de experiências,

observamos que o vírus persiste em vários órgãos do animal até, pelo menos, 30 dias após a inoculação por via nasal.

Diante destes resultados passamos a inocular maior número de animais tanto por via nasal como parenteral. Nesta série verificamos que o vírus persistiu, pelo menos, 5 meses e 18 dias quando inoculado por via peritoneal, menos pelas outras vias. A fim de obter mais segura comprovação fizemos nova série com número superior de animais, prolongando o tempo, após a inoculação, para sacrificar os últimos da série. Verificamos a persistência do vírus até pelo menos 515 dias pela mesma via e um pouco menos para as demais.

A seguir, passamos à segunda parte deste trabalho a qual consistiu nas passagens de hamster inoculado a hamsters normais, e, seguidamente, de hamster a hamster. Os resultados obtidos mostraram curioso comportamento, conforme se pode ver na descrição dos resultados. Verificamos, inicialmente, a passagem do vírus do hamster inoculado ao normal e, deste, a outro hamster normal, no intervalo de 15 dias. A passagem seguinte foi negativa. Na série paralela os resultados assemelharam-se, mas, na seguinte, o vírus não foi isolado na primeira passagem mas o foi na segunda e não na terceira. Já em outra passagem paralela às duas primeiras, o vírus foi isolado até a nona passagem, havendo passagens intermediárias negativas. Nas séries seguintes, os resultados foram semelhantes sendo que, numa delas, separamos o triturado dos pulmões dos demais órgãos, o que também foi feito nas séries seguintes em que o vírus ora foi

isolado de ambos os triturados, ora de um deles.

Foram usados 1940 camundongos nas diferentes provas quer para o isolamento do vírus quer como testemunhas, número suficientemente elevado para segurança dos resultados.

Vê-se, portanto, pelos resultados que acabamos de referir que o vírus da gripe, depois de inoculado em hamster, tanto pode ser isolado dos pulmões como dos órgãos. Por vezes, mantém-se oculto em determinada passagem para reaparecer na seguinte. Ora se consegue isolá-lo em muitas passagens, ora em uma ou duas somente. Comumente não mais se revela ao fim de determinado número de passagens. Verificamos, em um caso até a nona passagem, o que é excepcional. Em todos os casos, os animais mostraram-se com aparência normal, nenhuma alteração se verificando dentre as que se praticam comumente, mesmo as histológicas. Julgamos de interesse relatar os resultados aqui assinalados uma vez que ne-

nhuma referência anterior existe sobre o assunto. Os nossos próprios trabalhos anteriores foram executados com animais de outra espécie.

SUMMARY

Prolonged persistence of influenza virus in hamsters inoculated by parenteral and nasal routes

In the present paper the author describes the experiments made by the inoculation of PR8 strain of influenza virus (routine passages 669 to 825 in mice) in hamsters by subcutaneous, peritoneal and nasal routes and also passages from inoculated hamster to normal hamsters in serial passages. The virus persisted at least until 515 days in one experiment (3rd). In another experiment (8th) the 9th passage was positive. The hamsters inoculated did not show signs of illness or lesions macroscopic or microscopic in the main organs after death.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — LACORTE, J. G., 1966 — Persistence of influenza virus in mice inoculated by peritoneal route and their congenital transmission. IX International Congress for Microbiology. *Abstracts of papers*, Moscow, p. 383.
- 2 — LACORTE, J. G., 1967 — Persistence du virus de la grippe chez des souris inoculées par voie sous-cutanée et leur transmission congénitale. *C. R. Soc. Biologie*, 161 (5) : 1170-71.
- 3 — LACORTE, J. G., 1968 — Transmissão congênita experimental do vírus da gripe e seus efeitos. *O Hospital*, 74, (6) : 2015-2038.
- 4 — LACORTE, J. G., 1970 — Possível infecção latente produzida pelo vírus da gripe em coelhas grávidas (Transmissão congênita do agente infectante e sua repercussão no desenvolvimento embrionário ou fetal) *Jorn. Bras. Med.* 18 (3) : 48-58.
- 5 — LACORTE, J. G., 1970 — Persistência do vírus da gripe inoculado em coelhos por via parenteral. *Rev. Bras. Med.* 27 (6) : 308-311.
- 6 — LACORTE, J. G., 1972 — Transmissão congênita do vírus da gripe inoculado em hamster. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 70 (4) : 443-466.