

Sôro-virus vacinação na febre amarella (*)

pelo

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

(Chefe de Serviço)

A solução do problema da vacinação contra a febre amarella tem uma grande importancia pratica, não só como meio de protecção individual como pelo muito que póde contribuir para tornar mais facil e economica a prophylaxia da molestia. Assim, não é para admirar a somma consideravel de esforços que vêm sendo feitos para se encontrar um methodo seguro que traga solução util e efficaz para tão importante questão. (Aragão H. B. Brasil Medico 17-1-31).

Os processos até agora usados podem ser classificados em 3 grupos diversos, a saber:

1º.—Immunização passiva obtida no homem ou no animal por meio da injeccção de sôro de um individuo curado da febre amarella ou de um macaco immunizado contra o virus.

2º.—Immunização activa por meio de vaccinas constituidas por emulsões de órgãos de macacos infectados, após prévio tratamento do material por meio de um antiseptico apropriado; formol, chloroformio, acido phenico, etc.

3º.—A sôro-virus-vaccinação, isto é, uma vacinação activa obtida pela inoculação de sôro de individuo ou animal immunizado contra a febre amarella e de virus desta molestia, devendo esta ser feita 24 horas depois da primeira.

O primeiro methodo, o de immunização passiva por meio de sôro humano ou de animal immune contra a febre amarella, tem sido bastante empregado entre nós, quer para proteger as pessoas que trabalham nos laboratorios com virus amarillico, quer para aquellas que se acham em fôcos da molestia e sujeitas á picada de mosquitos infectados. Ascende a mais de 200 o numero de pessoas assim protegidas entre nós, não se tendo

(*) Recebido para publicação a 12 de Fevereiro de 1931.

verificado entre ellas caso algum de febre amarella. A dóse de sôro usada oscillou entre 1 a 4 c.c.

O methodo de vaccinação contra a febre amarella por meio de vacinas preparadas com emulsões de órgãos de macacos é o que teve até agora mais largo emprego na pratica e experiencia de laboratorio.

O methodo foi inaugurado por Hindle e usado tambem por nós, por Pettit, Lemos Monteiro e outros pesquisadores. Já anteriormente a commissão franceza havia verificado que o sôro aquecido de um amarelento, nos primeiros dias da molestia, isto é, quando ainda contém o virus, tinha acção vaccinante quando injectado num individuo não immune. As vaccinações com órgãos de macacos infectados tiveram, não só no laboratorio como na pratica, uma experimentação bastante ampla.

A principio o resultado do seu emprego no laboratorio e no homem foi bastante encorajador, mas depois que seu uso foi sendo feito em maior escala, revelou-se sua acção um tanto irregular. Nuns casos a immunização obtida foi muito bôa, ao passo que noutros deu falhas, attribuiveis á insufficiencia da dóse usada de 2 c.c. (no homem) e a possiveis variações das propriedades immunizantes das differentes emulsões usadas. As vaccinações humanas entre nós, por este processo, durante o surto epidemico de 1928-1929, elevaram-se a cerca de 25 mil.

Como este methodo de vaccinação ainda continúa em estudos de laboratorio, é possivel que novas technicas e maior experiencia venham tornar ainda mais efficiente sua acção, tanto no animal como no homem.

A sôro-virus vaccinação é um methodo de immunização contra a febre amarella que estamos ensaiando ha algum tempo, e que julgamos, pelas experiencias até agora feitas, ser capaz de dar resultados seguros e uteis na pratica.

Para se fazer a vaccinação por este processo são necessarios dois elementos: um sôro dotado de propriedades immunizantes contra a febre amarella e o virus amarillico. O sôro a ser usado tanto póde ser de um homem curado de febre amarella como de um macaco tambem curado da molestia. Estabelecido o processo de um modo pratico, é de todo recommendavel a hyper-immunização dos fornecedores de sôro (o homem ou macaco), por meio de successivas inoculações de sangue virulento ou picada de mosquitos infectados.

O virus necessario para o complemento da immunização, por este

processo, deve ser o que existe no sangue de macacos infectados, e que, sendo dessecado e mantido em baixa temperatura, se conserva inalterado por cerca de um anno. Desta fórma o virus póde ser facilmente transportado para qualquer ponto em que deva ser usado, sendo apenas necessario diluil-o, na occasião do emprego.

A realização pratica do processo é da maior simplicidade, pois consiste em se injectar 1 a 2 c.c. de sôro no macaco e 24 horas depois 0,1 c.c. de virus (sangue em natureza ou uma diluição correspondente de sangue secco) ¹. No homem a dóse de sôro a usar deve ser de 4 c.c., devendo a de virus não exceder a 0,1 c.c., que no macaco se revelou perfeitamente supportada. Doze dias depois da sôro-virus vacinação recommenda-se repetir a inoculação de mesma quantidade de virus (0,1 cc.) para reforço da primeira immunização. Nossa experiencia demonstrou que, mesmo mezes depois do emprego da sôro-virus vaccina, a immunização dos macacos é bastante segura, pois, inoculando-se-os com 0,1 a 1 cc. de sangue virulento, não apresentaram reacção alguma.

A realização pratica do processo não apresenta portanto nenhuma dificuldade insuperavel, sendo apenas necessario que, no caso de ser ampliado o seu uso, se organize um corpo de doadores de sôro, como já existem em muitos paizes para a prophylaxia do sarampo, etc., e um serviço de immunização de macacos com o mesmo objectivo. O virus sob a fórma de sangue dessecado é de facilima obtenção em larga escala, sem dificuldade maior, dada a pequena quantidade em que é usado.

A technica da sôro-virus vacinação contra a febre amarella resume-se no seguinte:—1°. Inoculação num *rhesus* de 1 a 2 cc. de sôro immunizante humano ou de macaco immune contra a febre amarella (para o homem 4 cc.).—2°. Inoculação, 24 horas depois, tanto no animal como no homem, de 0,1 cc. de sangue virulento em natureza ou a quantidade correspondente de uma diluição de sangue secco.—3°. Inoculação 12 dias depois, no animal ou no homem já submettido á sôro-vacinação, de 0,1 cc. de virus para consolidação da immunização obtida.

Estabelecida desta fórma a technica da sôro-virus vacinação contra a febre amarella, vejamos as experiencias em que nos baseamos para apresentar o processo como aqui o fazemos.

EXPERIENCIA I

Rhesus 160.—Inoculado em 19-IX-28 com 2 cc. de sôro de um menino (H.) suspeito de ter tido febre amarella (prova de protecção) e no

¹ Um centimetro cubico de sangue reduz-se, pelo dessecamento, a 0,165 grs. de material secco, e 0,1 cc. de sangue a 0,016 grs.

dia seguinte com 0,1 cc. de uma emulsão de fígado virulento de um macaco *rhesus*. Temperaturas: 19-IX, 39°; 20-IX, 38°,8; 21-IX, 39°,5; 22-IX, 39°; 23-IX, 38°,7; 24-IX, 39°,4; 25-IX, 39°; 26-IX, 39°; 27-IX, 39°,4; 28-IX, 39°,5; 29-IX, 39°,2; 30-IX, 39°,3. A seguir, o animal continuou sempre bem, confirmando a prova de protecção realizada ter sido de febre amarella o caso então em estudo. A observação do animal é interrompida e em 2-IV-29, isto é, mais de 6 mezes depois, é elle inoculado com 1 cc. de sangue virulento do *rhesus* 359 que matou outros macacos. Temperaturas: 2-IV, 39°,3; 3-IV, 39°,4; 4-IV, 39°,3; 5-IV, 39°,5; 6-IV, 39°,5; 7-IV, 39°,5; 8-IV, 39°,2; 9-IV, 39°; 10-IV, 39°,8; 11-IV, 39°; 12-IV, 39°,6. O animal continuou a passar bem, demonstrando assim que a sôro-virus vaccinação inicial lhe conferira uma immuni-
lida.

EXPERIENCIA II

Rhesus 213.—Inoculado em 23-XI-28 com 2 cc. de sôro de um homem (F.) suspeito de ter tido febre amarella (prova de protecção) e no dia seguinte com 0,1 cc. de uma emulsão de fígado virulento de um *Macacus rhesus*. Temperaturas: 23-XI, 39°; 24-XI, 39°,2; 25-XI, 39°,7; 26-XI, 39°,1; 27-XI, 39°; 28-XI, 38°,9; 29-XI, 38°,5; 30-XI, 39°,4; 1-XII, 39°,2; 2-XII, 39°,3; 3-XII, 39°,2. A seguir, o animal continuou a passar bem, confirmando a prova de protecção ter sido de febre amarella o caso então em estudo. Em 8-XII-28 este animal é inoculado com 0,1 cc. de sangue virulento do *rhesus* 212 que matou outros macacos. Temperaturas: 8-XII, 39°,1; 9-XII, 39°; 10-XII, 39°,6; 11-XII, 39°,3; 12-XII, 39°,2; 13-XII, 38°,9; 14-XII, 39°,3; 15-XII, 39°,4; 16-XII, 39°,2. O animal depois desta segunda inoculação de virus sempre passou bem, demonstrando, como o anterior, que a sôro-virus vaccinação inicial lhe conferira uma immuni-
dade segura contra a febre amarella.

EXPERIENCIA III

Rhesus 626.—Inoculado com 2 cc. de sôro do *rhesus* 12 (hyperimmunizado) por via subcutanea em 21-XII-29 e no dia seguinte com 0,1 cc. de sangue virulento do *rhesus* 620. Temperaturas: 21-XII, 39°,1; 22-XII, 39°; 23-XII, 39°,2; 24-XII, 39°,6; 25-XII, 39°,5; 26-XII, 39°,8; 27-XII, 39°,9; 28-XII, 39°,6; 29-XII, 39°,4; 30-XII, 39°; 31-XII, 39°. O animal mantem-se sem alteração até 27-I-30 quando foi inoculado com 1 cc. de sangue virulento do *cynomolgus* 644. Temperaturas: 27-I, 39°,1; 28-I, 39°; 29-I, 38°,8; 30-I, 39°; 31-I, 38°,9; 1-II, 39°,1; 2-II, 39°,2; 3-II, 39°,5; 4-II, 39°,5; 5-II, 39°,4; 6-II, 39°,3; 7-II, 39°,5. A 8-II-30 a tempe-

ratura do animal se eleva a 39°,8, no dia seguinte a 39°,9, depois a 40° e assim se mantem até o dia 15-II-30, quando o animal é sacrificado, verificando-se que apresenta broncho-pneumonia, fôcos de tuberculose, mas nenhuma lesão de febre amarella, o que demonstra que a imunização pela sôro-virus vacinação ainda neste caso conferiu ao animal uma imunização completa e segura contra uma inoculação posterior do virus puro.

EXPERIENCIA IV

Rhesus 785.—Inoculado por via subcutanea com 1 cc. de uma mistura de sôro dos *rhesus* hyperimmunizados (ns. 12 e 20) no dia 20-X-30 e no dia seguinte com 1 cc. de uma diluição de sangue secco correspondente a 0,1 cc. de sangue em natureza. Temperaturas: dia 20-X, 39°,2; 21-X, 39°; 22-X, 39°; 23-X, 39°,3; 24-X, 39°,4; 25-X, 39°,5; 26-X, 39°,6; 27-X, 39°,4; 28-X, 39°,6. O macaco não apresentou reacção alguma até 26-XII-30 quando foi novamente inoculado com 1 cc. de uma diluição de sangue virulento secco correspondente a 0,1 de sangue em natureza. Temperaturas: 26-XII, 38°,4; 27-XII, 38°,3; 28-XII, 38°,1; 29-XII, 38°,4; 30-XII, 38°,8; 31-XII, 38°,6; 1-I-31, 38°,4; 2-I, 38°,8. O macaco resistiu, como se vê perfeitamente, a essa nova inoculação de virus, demonstrando assim estar solidamente immunizado.

EXPERIENCIA V

Rhesus 786.—Inoculado por via subcutanea com 2 cc. de uma mistura de sôro de 2 individuos curados de febre amarella em 20-X-30 e no dia seguinte com 1 cc. de uma diluição de sangue secco correspondente a 0,1 cc. de sangue em natureza. Temperaturas: dia 20-X-30, 39°,3; 21-X, 39°,5; 22-X, 39°,3; 23-X, 39°,4; 24-X, 39°,1; 25-X, 39°; 26-X, 39°,2; 27-X, 39°,1; 28-X, 39°,3. Este *rhesus* nenhuma alteração apresentou até 26-XII-30 e nesta data recebeu uma nova inoculação de virus: 1 cc. de uma diluição de sangue secco correspondente a 0,1 cc. de sangue em natureza. Temperaturas: 26-XII, 38°,4; 27-XII, 38°,1; 28-XII, 38°,6; 29-XII, 38°; 30-XII, 38°,5; 31-XII, 38°; 1-I-31, 37°,9; 2-I, 37°,8. Da mesma fórma que o *rhesus* anterior, este macaco resistiu perfeitamente a esta nova inoculação de virus, o que demonstra a solidez da immunidade conferida pela sôro-virus vacinação inicial.

EXPERIENCIAS DIVERSAS

Além das experiencias acima mencionadas detalhadamente e das quaes se evidencia a vantagem da sôro-virus vacinação segundo a technica usada, como meio de se obter uma immunização garantida contra a

febre amarella, tivemos occasião de fazer algumas outras com objectivos diversos e que, por não terem importancia maior, aqui mencionaremos resumidamente. São ellas as seguintes:

1º.—Experiencias de sôro-vaccinação usando uma menor quantidade de sôro por via venosa. Em 2 macacos *rhesus* (605 e 606) inoculámos 0,5 cc. de sôro de macaco hyperimmunizado na veia e, 24 horas depois, 0,1 cc. de sangue virulento. Ambos os animaes supportaram a injeccão do virus, mas o segundo teve algumas reacções febris, entre 40 e 41 grãos, durante 4 dias, e depois tudo se normalizou. Inoculados os dois macacos 22 dias depois com uma nova dóse de 0,1 cc. de sangue virulento, tiveram elles de novo reacções febris durante alguns dias e em seguida tudo voltou ao normal. Uma nova inoculação no *rhesus* 605, de 2 cc. de sangue virulento, veio demonstrar que a immunização deste animal era solida, pois elle não apresentou reacção alguma.

2º.—Experiencias feitas com pequenas quantidades de sôro humano e de animal hyperimmunizado contra a febre amarella. Algumas experiencias de sôro-virus vaccinação, feitas usando o sôro em quantidades de 0,01, 0,1 0,5, 1 2 2 cc. com o fim de verificar qual a quantidade minima de sôro que poderia ser usada para proteger e immunizar um *rhesus* contra a febre amarella, demonstraram que os animaes só deixam de apresentar reacção com 1 cc. de sôro. Com 0,5 cc. ainda ha reacções febris e com 0,01 e 0,1 cc. os animaes succumbem á febre amarella. Assim, a dóse util para o macaco deve ser considerada a de 1 cc.; não devendo serem usadas para o homem menos de 4 a 5 cc. de sôro de um individuo curado contra a febre amarella ou de macaco hyperimmunizado.

3º.—Além do sôro humano e de macaco, procuramos verificar si os mesmos resultados poderiam ser obtidos com o uso de sôro de cavallo immune contra a febre amarella, o que traria na pratica grande vantagem; infelizmente, porém, os resultados não foram bons, devido ao fraco poder protector do sôro usado.

4º.—Algumas experiencias foram feitas, substituindo-se as injeccões subcutaneas simultaneas dos dois elementos, em pontos diversos do corpo do mesmo animal, ou ainda usando misturas de sôro (0,5 cc.) e virus (0,1 cc.) por via subcutanea. Em ambos os casos os animaes, embora tivessem resistido a inoculações, apresentaram reacções febris, mais ou menos prolongadas, de modo que só talvez com o uso de maiores quantidades de sôro se venha a colher resultado favoravel com este processo.

CONCLUSÕES

Examinando os resultados até agora obtidos com o uso da sôro-virus vaccinação na febre amarella, pensamos poder admittir que o processo é

de facil realização pratica e que confere uma immunização segura aos animaes em que é empregado, e que dará na pratica da vacinação humana os resultados que delle são esperados.

A facilidade do transporte do sôro e do virus secco virulento asseguram ao processo a possibilidade de seu emprego em qualquer ponto em que se torne necessario este methodo de protecção.

Esperamos que a divulgação do methodo venha concorrer para sua experimentação nos differentes centros de estudo de febre amarella.
