

VACINA ANTIVARIÓLICA OBTIDA EM CULTURA PRIMÁRIA DE CÉLULAS EPITELIAIS DE RIM DE COELHO

(NOTA PRÉVIA)

Edda de Rizzo (1) e Murillo A. SOARES (2)

RESUMO

Em vacinações antivariólicas experimentais, empregando vacina com vírus vacínico de alta passagem (174-180 passagens sucessivas) sempre em culturas primárias de células epiteliais de rim de coelho e vacina de origem bovina foi verificado que, quando a vacina de cultura celular tem atividade idêntica à da vacina de origem bovina, os resultados obtidos com relação aos tipos de reações cutâneas (que, geralmente, são critério de avaliação do índice de imunidade dos indivíduos vacinados) são, praticamente, os mesmos.

Como esta avaliação nem sempre retrata o grau de imunidade conferido pela vacina, provas sorológicas estão sendo realizadas para esclarecer se o poder antigênico dos dois tipos de vacina é o mesmo.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde, através de um grupo de especialistas em varíola, recomenda que as pesquisas sobre a obtenção de vacinas antivariólicas de culturas celulares "*in vitro*" sejam intensificadas, a fim de que a sua antigenicidade e inocuidade possam ser julgadas em definitivo.

O Instituto Butantan vem, através da Secção de Virologia, estudando o assunto há alguns anos.

Os Autores apresentam resultados preliminares de vacinações antivariólicas realizadas com vacina de vírus vacínico de alta passagem (174-180 passagens sucessivas em culturas primárias de células epiteliais de rim de coelho). Esta vacina apresenta algumas vantagens em relação à vacina de origem bovina: sua pureza, e a simplificação, rapidez e economia de sua produção.

Em trabalho preliminar¹, através da vacinação de 600 indivíduos adultos, primovacinados e revacinados, com dois tipos de vacina antivariólica: de origem bovina e de cultura primária de células epiteliais de rim de

coelho, foi verificado que a percentagem de positividade obtida com a vacina de cultura celular, em primovacinações de adultos, era comparável à percentagem obtida com a vacina clássica de origem bovina, glicerínada. Em revacinações, as percentagens de positividade obtidas com vacina de cultura celular eram um pouco menores, devendo-se considerar contudo, que a vacina de origem bovina apresentava título cerca de 1,5 log maior do que o título da vacina de cultura.

No presente trabalho utilizamos uma nova vacina obtida em culturas primárias de células epiteliais de rim de coelho, inoculadas com vírus vacínico de alta passagem (174 passagens sucessivas do vírus em culturas primárias). Esta vacina, que mostrara-se inócua nas provas de laboratório e cujo vírus não sofrera alterações nas suas propriedades morfológicas e antigênicas após as 174 passagens, apresentava título de $1,2 \times 10^7$ U.I./ml (em membrana córioalantóide de embrião de galinha). Foi aplicada pelo processo de multipunctura, em cêr-

(1) Assistente — Responsável pelo Setor de Cultura de Tecidos Experimental da Secção de Virologia do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

(2) Assistente — Responsável pelo Setor de Vírus Epidermo - Dermotrópicos da Secção de Virologia do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

ca de 2.000 indivíduos do sexo masculino, com idade variando de 16 a 60 anos, os quais já haviam sido vacinados anteriormente, com intervalo mínimo de três anos.

Para servirem de termo de comparação foram aplicadas na mesma ocasião: a) em aproximadamente 4.000 pessoas, vacina antivariolífica de origem bovina, glicerínada, de título superior ao da vacina de cultura ($7,1 \times 10^7$ U.I./ml); b) em aproximadamente 1.300 pessoas, vacina obtida em membrana cório-alantóide de embrião de galinha, com título de 3×10^7 U.I./ml.

maior potência, para a obtenção de resultados mais significativos. Com esta finalidade submetemos a vacina (partidas 178/180) à concentração por centrifugação diferencial e a aplicamos em 255 indivíduos adultos, em revacinação (Rizzo & col.²). Para termo de comparação vacinamos outros 245 indivíduos com a vacina clássica de linfa bovina. Nesta ocasião pudemos padronizar a técnica de vacinação (por multipunctura) que foi, praticamente, realizada por apenas dois vacinadores experientes, eliminando assim, um fator de influência nos resultados. Do total

QUADRO I

Reações à vacinação com três tipos de vacina antivariolífica: de cultura celular, de origem bovina e de membrana cório-alantóide de embrião de galinha

Vacina	Título em MCA	N.º de vacinados	N.º de leituras realizadas	Tipos de reação				
				VRP	VRN	RA	RI	Neg.
Cultura Celular	$1,2 \times 10^7$ U.I./ml	1.974	1.257	63	26	214	651	303
Linfa Bovina	$7,1 \times 10^7$ U.I./ml	3.839	1.160	59	25	346	300	430
Membrana Cório-alantóide	3×10^7 U.I./ml	1.267	425	16	17	93	173	126
Totais		7.080	2.842					

VRP — vacinia de revacinação do tipo primário
 VRN — vacinia de revacinação do tipo necrótico
 RA — reação do tipo acelerado
 RI — reação do tipo imediato
 Neg. — reação negativa
 U.I./ml — unidades infetantes por mililitro

A interpretação dos resultados obtidos seguiu a classificação de reações à vacinação antivariolífica sugerida por Cross & col.¹. Embora o número de vacinados fôsse grande, os dados constantes do Quadro I, referem-se apenas à leitura de uma parcela do total de indivíduos vacinados, realizada no 7.º dia após a vacinação.

O número razoável de reações VRP pode ser devido ao fato de grande parte dos indivíduos vacinados ter recebido vacina, pela última vez, há mais de três anos. Restava também saber qual a percentagem de indivíduos que, apresentando reação do tipo RI, estava imunizada.

Com base na experiência realizada, verificamos a necessidade de serem conseguidas vacinas antivariolíficas de cultura celular com

de indivíduos vacinados acompanhamos o desenvolvimento da reação de vacinação realizando para isso, leituras no 4.º dia após a vacinação e confirmando-as posteriormente, no 7.º dia. Os resultados estão esquematizados no Quadro II.

Embora se reconheça que passagens prolongadas e repetidas de vírus em culturas de tecidos e em membranas cório-alantóide de embrião de galinha possam diminuir seu poder imunizante, a nossa experiência mostra que, nas culturas de células epiteliais de rim de coelho, o vírus vacínico de altas passagens (174-180) mantém a sua antigenicidade e a inocuidade.

Verificamos assim que, quando se emprega vacina de cultura de células epiteliais de rim de coelho com potência idêntica à da va-

QUADRO II

Comparação das reações de vacinação à vacina antivariólica de cultura celular (submetida a concentração) e à vacina de origem bovina

Vacina	Título em MCA	N.º de vacinados	Tipos de reação				
			VRP	VRN	RA	RI	Neg.
Cultura (passagem 178/180)	3×10^7 U.I./ml	255	16	66	70	62	41
Língua Bovina (partida 9.609)	$2,3 \times 10^7$ U.I./ml	245	23	61	48	77	36

QUADRO III

Resultados apresentados no Quadro II, considerando apenas as reações efetivamente positivas (VRP, VRN e RA), as reações RI (que podem ou não conferir imunidade), e as reações realmente negativas

Vacina	Título em MCA	N.º de vacinados	Tipos de reação		
			Positiva (VRP, VRN, RA)	Imediata (RI)	Negativa
Cultura Celular	3×10^7 U.I./ml	255	152	62	41
Língua Bovina	$2,3 \times 10^7$ U.I./ml	245	132	77	36

cina de origem bovina, os resultados são praticamente os mesmos, inclusive nos casos de revacinação.

Para esclarecer qual o número de indivíduos que, apresentando reação do tipo imediato (RI), as quais geralmente não são consideradas como positivas, está realmente imunizado, foram colhidas de uma parte dos vacinados, duas amostras de sangue: uma antes da vacinação e outra depois, entre o 15.º e o 19.º dias. Provas sorológicas a serem realizadas com estas amostras vão nos indicar o poder antigênico das duas vacinas, o qual se evidenciará pelo aumento dos anticorpos pós-vacinais.

SUMMARY

Smallpox vaccine obtained in primary epithelial cell cultures of rabbit kidney (Preliminary report)

In experimental smallpox vaccinations two types of vaccines were used: a) vaccine with vaccinia virus of high passage (174-180 successive passages) always in primary cul-

tures of epithelial rabbit kidney cells; b) vaccines of bovine origin.

It has been verified that, when both vaccines show an identical potency, the results obtained in relation to the types of cutaneous response (which usually represent the avalliation criterion of the immunity index of vaccinated individuals) are practically the same.

Since this avalliation does not always reveal the immunity degree conferred by the vaccine, serological assays are being done to elucidate the eventual sameness of antigenic potency of both vaccine types.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CROSS, R. M. — Observations on the classification and interpretation of reactions to smallpox vaccination. *Bull. W. H. O.* 25: 7-17, 1961.
- RIZZO, E. de; SOARES, M. A. & NAKAHATA, H. — Dados não publicados, 1967.
- VALLEJO-FREIRE, A.; RIZZO, A. de & SOARES, M. A. — Dados não publicados, 1961.

Recebido para publicação em 26/12/1967.