

## VACINAÇÃO T. A. B.

### I. Formação de aglutininas no homem resultante do emprego de vacina formolada

J. S. de MACEDO LEME & L. NOGUEIRA CARRIJO

Para o preparo da vacina T. A. B. do Instituto Butantan (produto 285) são utilizadas suspensões bacterianas mortas e desintoxicadas pela ação do formol a 0.5%, durante 30 dias, à temperatura de 37°C. Como preservativo é usado o ácido fênico a 0.25%.

Trata-se, portanto, de uma vacina T. A. B. formolada. Ora, o comportamento desse tipo de vacinas, quanto à capacidade de induzir a produção de aglutininas nos indivíduos vacinados, nunca foi investigado de maneira satisfatória. Alivisatos (1), que primeiro a empregou em larga escala, obteve bons títulos aglutinantes. Contudo, as aglutinações por ele efetuadas só nos dão idéia da formação de aglutinina "H" (flagelar), visto serem feitas pelo método quantitativo. A análise qualitativa das aglutininas (2) ainda não havia entrado na prática corrente. Na mesma falha incidem as aglutinações realizadas entre nós e citadas por Piza (3). Outros pesquisadores que cuidaram do assunto não elucidaram esse ponto (4).

Diante desses fatos resolvemos experimentar esse nosso produto, sob tal ponto de vista, em um número suficiente de indivíduos. O assunto é de interesse no momento, principalmente devido à revisão que as diferentes técnicas para o preparo das vacinas T. A. B. têm sofrido ultimamente. Essa revisão é consequente à descoberta, por parte de Felix e colaboradores (5), de um novo componente antigênico do B. tífico, — o antígeno "Vi", de grande importância na ação patogênica dessa bactéria, o que torna, si não indispensável, pelo menos aconselhável a sua presença na vacina preventiva.

#### MATERIAL E MÉTODO

A vacinação foi feita em alienados da Colonia Adhemar de Barros do Hospício do Juquerí. As doses empregadas foram as mesmas constantes da bula do produto, ou seja: 0.5 cm<sup>3</sup>, 1.0 cm<sup>3</sup> e 1.5 cm<sup>3</sup>, intervaladas de uma semana e por via subcutânea. A pesquisa de aglutininas foi feita no soro de cada indivíduo, obtido imediatamente antes da primeira e uma semana após a terceira dose.

As aglutininas pesquisadas foram as correspondentes aos antígenos somático termoestável (aglutinina "O") e flagelar (aglutinina "H"). A correspondente ao antígeno somático termolábil (aglutinina "Vi") só foi pesquisada em pouco mais de uma dezena de casos, pela técnica de Felix (6). Não havendo encontrado nenhum caso positivo ao título de 1:10, tanto antes quanto após a vacinação, e sendo sabido, de antemão, que o antígeno "Vi" não pode resistir à técnica de preparo de uma vacina formolada-fenolada, em virtude de sua extrema labilidade (7), resolvemos suspender essa verificação.

Os antígenos destinados à reação foram preparados segundo as normas traçadas por Gardner e Felix, por ocasião do 2.º Congresso Internacional de Microbiologia, realizado em Londres, em Julho de 1936 (8), às quais também obedeceram todos os demais cuidados de ordem técnica adotados neste trabalho. Para o antígeno "O" preferimos o emprego de suspensões alcoólicas, feitas com a amostra 0901, e, para o antígeno flagelar, suspensões formoladas da amostra H 901. Estandarização por nefelometria, dando para a diluição final das reações uma concentração de cerca de  $450 \times 10^6$  bactérias por  $\text{cm}^3$ .

Para a incubação dos tubos de reação preferimos a estufa a  $37^\circ\text{C}$ , por trabalharmos com soros em sua totalidade hemolisados, evitando, dessa forma, as possíveis pseudo-aglutinações, atribuídas à redução da hemoglobina, quando se opera em banho-maria a  $50^\circ\text{C}$  ou mais. As leituras foram feitas, para a aglutinação "H", dentro dos dez minutos seguintes a uma permanência de duas horas na estufa, e, para a aglutinação "O", após 20-24 h de incubação, dentro da primeira hora da retirada dos tubos da estufa. Foram considerados resultados positivos, para a aglutinação "H", a última diluição visível a olho nú, e, para a aglutinação "O", a última visível com o auxílio de uma pequena lente.

Alem da adoção de técnicas padrões, seria de desejar, para que os nossos resultados mais se aproximassem de um critério rigoroso de uniformidade internacional, o emprego das suspensões padrões distribuídas pelo "Standard Laboratory" do "Medical Research Council", de Londres (9). Impossibilitados de tal coisa em virtude da guerra, procuramos, ao menos, garantir um máximo de uniformidade em nossos próprios resultados, nesta e em outras experiências, em andamento ou projetadas. Visando tal objetivo preparamos, em coelho, dois soros específicos, um anti-O e outro anti-H tipo específico. Esses soros foram titulados rigorosamente pela primeira partida de antígenos por nós preparada. Alem de servirem para aferir aos antígenos, mensalmente, servirão, também, para padronizar futuras partidas dos mesmos.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos, resultantes da vacinação de 111 indivíduos, estão resumidos no quadro No. 1.

QUADRO I

TÍTULO DE AGLUTININAS "O" E "H" ANTES E DEPOIS DO EMPREGO DO PRODUTO 285 PELA VIA SUBCUTANEA									
Resultado	Diluição	A g l u t i n i n a " O "				A g l u t i n i n a " H "			
		Antes		Depois		Antes		Depois	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Negativo	1:10	75	67,56	73	65,76	88	79,27	10	9,00
Positivo	1:10	17	15,32	17	15,32	8	7,23	2	1,80
"	1:20	18	16,22	20	18,02	7	6,30	17	15,31
"	1:40	1	0,90	1	0,90	7	6,30	27	24,32
"	1:80	0	0,00	0	0,00	1	0,90	24	21,62
"	1:160	0	0,00	0	0,00	0	0,00	13	11,72
"	1:320	0	0,00	0	0,00	0	0,00	11	9,90
"	1:640	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	1,80
"	1:1280	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	1,80
"	1:2560	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	1,80
"	1:5120	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,90
		111		111		111		111	

A análise dos dados obtidos nos mostra que o teor de aglutinina "O" pouco foi modificado pela vacinação. Já o mesmo não ocorre em relação à aglutina "H", cujo título se mostra bastante alterado após a 3.<sup>a</sup> dose da vacina. Em alguns casos atingiu mesmo a títulos elevados, superiores a 1:1 000 (cinco casos).

Considerando as grandes variações individuais na produção de anticorpos, as quais motivam uma grande discrepância nos títulos obtidos para diferentes indivíduos, que tenham recebido o mesmo antígeno, nas mesmas doses e em condições idênticas, Felix (10) propõe que se leve em consideração apenas o que ele denomina como "significantive increase", e que consiste num aumento de pelo menos o dobro do título anterior à vacinação. Levando em conta esse criterio obteremos os resultados estampados no quadro 2.

QUADRO II

Anticorpo	No. de vacinados	No. c/ aumento 100%	Resultado %
Aglutinina "O"	111	2	1,80
Aglutinina "H"	111	97	87,38

Verifica-se, desse modo, que mesmo se adotando um criterio favoravel para avaliar-se o aumento de anticorpos resultantes da vacinação, a produção de aglutininas "O" foi praticamente nula. Há varios resultados semelhantes na literatura sobre o assunto, obtidos por varios outros pesquisadores (11), com di-

ferentes tipos de vacina. Tais resultados foram, entretanto, refutados (12), e, mesmo aqueles que os obtiveram, chegaram à conclusão, posteriormente, de que uma boa vacina deve ocasionar, no organismo vacinado, um aumento da aglutinina "O" (10 e 13).

E' de supor-se, portanto, a existencia de uma causa qualquer determinante de nosso resultado, absolutamente inesperado. Talvez a longa conservação do produto, antes de seu emprego, ocasionando uma alteração das propriedades aglutinogênicas do antígeno "O". Talvez uma ação, no mesmo sentido, do ácido fênico utilizado como preservativo (13). E talvez ambas as causas.

Podemos afirmar, contudo, não ser tal resultado devido a um ocasional emprego de amostras rugosas no preparo do produto (14), porquanto existe, de parte da Seção, um maximo rigor em relação a esse ponto.

Pretendemos, em futuro proximo, investigar melhor essa questão.

### RESUMO

Os A. A. experimentaram a vacina T. A. B. do Instituto Butantan (produto 285) em 111 alienados do Hospital do Juquerí. Tendo sido verificado, no soro dos vacinados, um aumento insignificante da aglutinina "O", sugerem uma explicação que se propõem verificar.

### ABSTRACT

The authors examined the T. A. B. vaccine of the Instituto Butantan (product Nr. 285) with 111 mental cases at the "Hospital do Juquerí". As they were able to state only an insignificant increase of the agglutinine "O" in the serum of the vaccinated, they suggest an explanation, which they intend to give.

### BIBLIOGRAFIA

1. *Alivisatos, G. P.* — Centralbl. f. Bakt., etc., I. Originale 95(1):120.1925.
2. *Felix, A.* — J. Immunol. 9:115.1924.  
*Felix, A.* — Lancet 1:505.1930.  
*Felix, A. & Olitzki, L.* — J. Immunol. 11:31.1926.  
— J. of Hyg. 28:55.1928/29.
3. *Piza, J. de Toledo* — An. Paul. Med. Cir. 18(10):177.1927.
4. *Pattané, G.* — Boll. Sez. ital. Soc. inter. microb. 3(10):678.1931.  
*Mennonna, G.* — Boll. Ist. Sierot. Milanese 11:614.1932.  
*Wherry, W. B. & Bowen, J. A.* — J. Infect. Dis. 37:520.1925.  
*Costa, S., Boyer, L. & Placidi, L.* — C. R. S. Biol. 92:1053.1925.  
*Durand, P.* — C. R. S. Biol. 92:159.1925.  
*Sabena, V.* — Boll. Ist. Sierot. Milanese 12(15):391.1933.

5. *Felix, A. & Pitt, R. M.* — *J. Path. Bact.* 38:409.1934.  
— *Lancet* 2:186.1934.  
— *J. of Hyg.* 35:428.1935.  
*Felix, A.; Pitt, R. M. & Bhatnagar, S. S.* — *Brit. J. Exp. Path.* 15:346.1934.
6. *Felix, A.* — *J. Hyg.* 38:750.1938.
7. *Felix, A. & Bhatnagar, S. S.* — *British J. Exp. Path.* 16:422.1935.
8. *Gardner, A. D. & Felix, A.* — *Bull. Org. Hyg. Soc. des Nations* 6:235.1937.
9. *Rodrigues, P. M.* — *Rev. Ass. Paul. Med.* 18(4):29.1941.
10. *Felix, A.; Rainsford, S. G & Stokes, E. J.* — *Brit. Med. J.* 1:435.1941.
11. *Felix, A.* — *J. Immunol.* 9:115.1924.  
— *J. Hyg.* 28:418.1929.  
— *Lancet* 1:505.1930.  
*Stuart, G. & Krikorian, K. S.* — *J. Hyg.* 28:105.1928.  
*Pijper, A.* — *J. Hyg.* 29:380.1930.
12. *Gardner, A. D.* — *J. Hyg.* 28:376.1929.  
— *Lancet* 1:427.1930.  
*Mudd, S.* — *J. Immunol.* 23:81.1932.  
*Smith, A.* — *J. Hyg.* 32:143.1932.  
*Willie, J.* — *J. Hyg.* 32:375.1932.  
*Horgan, E. S.* — *J. Hyg.* 32:523.192.  
*Giglioli, G.* — *J. Hyg.* 33:387.1933.  
*Dennis, E. W. & Berberian, D. A.* — *Amer. J. Hyg.* 20:469.1934.  
*Grasset, E.* — *Presse Med.* 47(95/96):1653.1939.  
*Dulaney, A. D.; Wickle, W. T. & Trigg, R.* — *Amer. J. Publ. Health* 22:1033.1932.
13. *Stuart, G. & Krikorian, K. S.* — *Lancet* 2:644.1934.

(Trabalho da Secção de Soros e Vacinas do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 19 de agosto de 1943 dado à publicidade em dezembro de 1943).

