

ESTUDO EVOLUTIVO DE ANTICORPOGÊNESE EM HUMANOS VACINADOS CONTRA RAIVA PELA R.F.C. EM P.ACA. *

ADÉLIO DA SILVA **

RESUMO

Foi estudada, pela Microtécnica de Fixação de Complemento em placa, a cinética da anticorpo-gênese em 110 pessoas vacinadas contra raiva, com diferentes tipos de vacina, usando-se como antígeno a própria vacina anti-rábica preparada segundo Fuenzalida & Palacios. Foram observados, indiferentemente quanto ao grupo etário, títulos de anticorpos compatíveis aos admitidos como protetores em torno do 15.^o dia, após a primeira dose da vacina.

Observou-se, também, que o esquema de 14 doses confere imunidade naquele mesmo período, baseando-se nos títulos de anticorpos fixadores de complemento presentes, equivalentes aos títulos de soro-neutralização correspondentes.

INTRODUÇÃO

É muito ampla a disseminação da raiva em nosso meio; sua ocorrência em animais canídeos e bovinos tem sido sempre registrada (4).

Embora haja uma grande quantidade de cães vadios em nossas ruas, tem sido relativamente baixo o número de pessoas acometidas de raiva; nos últimos 3 anos foram registrados, em nosso Estado, 10 casos de raiva humana (2). Por outro lado, a quantidade de pessoas atacadas por cães que procuram o Serviço de Profilaxia Anti-rábica para se submeterem a vacinação, cresce dia a dia.

De 1970 até julho do corrente ano, somente a Organização de Saúde do Estado de Goiás vacinou 1.240 pessoas contra raiva. A avaliação do número total de vacinados anualmente é praticamente impossível, visto que muitos são atendidos em Serviços particulares.

Só recentemente, entretanto, as autoridades sanitárias foram alertadas para o grave problema e têm procurado adaptar e organizar os meios necessários para combatê-lo.

* Trabalho realizado no Instituto de Patologia Tropical (IPT) da Universidade Federal de Goiás. (UFGO.)

** Prof. Assistente do Dept.^o de Microbiologia do IPT-Go.

O fato alviçareiro de ter sido padronizada por Pereira e Cols., uma técnica relativamente simples de Fixação de Complemento, cuja equivalência ao teste clássico de Neutralização foi demonstrada também por estes autores, nos induziu a experimentar sua padronização e introdução em nosso meio.

O presente trabalho tem por finalidade apresentar os primeiros resultados de nossa experiência com essa técnica, em vacinados contra raiva, usando-se 3 tipos diferentes de vacina anti-rábica.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtivemos os soros de pacientes do Centro de Saúde de Goiânia, Unidade Sanitária da Organização de Saúde do Estado de Goiás, onde, além de outros serviços, se administra vacinação anti-rábica.

Na época da realização do presente trabalho, ali se administravam indiferentemente, de acordo com a disponibilidade, vacinas anti-rábicas dos tipos — Fermi, Semple e Fuenzalida. O número de doses prescritas era também variável.

Deliberadamente às cegas, quanto ao tipo da vacina empregada, estudamos 110 pessoas atacadas por cães raivosos ou pseudo-raivosos e submetidas à vacinação com 7, 14, 21 ou 28 doses de vacina.

O sangue foi coletado em faixas de tempo, do dia zero ao

131.^o, sempre a contar da primeira dose de vacina tomada pelo paciente, obedecendo os seguintes períodos: 0 a 2 dias, 3 a 5 dias, 6 a 13 dias, 14 a 18 dias, 19 a 25 dias, 26 a 33 dias, 34 a 60 dias, 61 a 96 dias e 110 a 131 dias.

Para um mesmo paciente foram previstas 7 coletas de sangue, o que infelizmente não ocorreu, visto que a maioria, por motivos alheios a nossa vontade, não completaram as 7 coletas previstas.

O soro foi separado assepticamente, inativado e guardado em refrigerador até a hora do uso. A maior diluição usada foi 1:32 e a menor 1:2.

O antígeno usado foi a própria vacina anti-rábica preparada segundo Fuenzalida & Palacios, diluída a 1:8.

O diluente foi sempre sol. salina tamponada de Veronal.

A técnica de escolha para a realização do trabalho foi a Microtécnica de Fixação de Complemento em Placas, descrita por Fulton & Dumbell 1), modificada por Shope, segundo Pereira e Cols. (3).

Microtécnica de Fixação de Complemento:

Numa placa especial coloca-se 0,025 ml (das várias diluições) do soro, 0,025 ml do antígeno (diluído a 1:8), 0,1 ml do complemento (2 unidades 100% hemolíticas) e incuba-se a 37° C durante 1 hora. Após a incuba-

TABELA I

Resultados das reações de fixação de complemento em placa em 110 vacinados

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	67	94,4	04	5,6	—	—	—	—	0,11	71
3—5	54	80,6	13	19,4	—	—	—	—	0,38	67
6—13	09	21,4	29	69,1	04	9,5	—	—	1,76	42
14—18	01	1,5	44	62,8	25	35,7	—	—	2,68	70
19—25	—	—	05	7,7	43	66,2	17	26,1	4,89	65
26—33	—	—	—	—	06	9,5	57	90,5	11,4	63
34—60	—	—	—	—	07	58,4	05	41,6	5,66	12
61—96	—	—	—	—	14	45,1	17	54,9	6,19	31
110—131	—	—	10	52,6	08	42,2	01	5,2	3,15	19

TABELA II

Resultados das reações de fixação de complemento em relação a grupo etário
0—10

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	16	88,9	2	11,2	—	—	—	—	0,2	18
3—5	19	82,6	4	17,4	—	—	—	—	0,3	23
6—13	3	13,6	15	68,2	4	18,2	—	—	2,1	22
14—18	—	—	9	53,0	8	47,0	—	—	2,9	17
19—25	—	—	2	10,5	12	63,2	5	26,3	4,7	19
26—33	—	—	—	—	—	—	18	100	11,5	18
34—60	—	—	—	—	2	33,3	4	67,6	6,6	6
61—96	—	—	1	9,1	6	54,5	4	32,4	5,2	11
110—131	—	—	4	58,3	1	17,8	1	17,9	3,3	6

TABELA III

Resultados das reações de fixação de complemento em relação a grupo etário

11—20

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	30	94,8	1	3,2	—	—	—	—	0,1	31
3—5	21	87,5	3	12,5	—	—	—	—	0,2	24
6—13	4	30,7	9	69,3	—	—	—	—	1,4	13
14—18	—	—	17	56,6	13	43,4	—	—	2,8	30
19—25	—	—	1	4,1	17	70,8	6	25,1	4,9	24
26—33	—	—	—	—	1	4,3	22	95,7	11,6	23
34—60	—	—	—	—	2	66,6	1	33,4	5,3	3
61—96	—	—	—	—	2	16,6	10	83,4	11,3	12
110—131	—	—	2	50	2	50	—	—	3,0	4

TABELA IV

Resultados das reações de fixação de complemento em relação a grupo etário
21—30

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	10	100	—	—	—	—	—	—	0,0	10
3—5	2	33,3	4	66,7	—	—	—	—	1,3	6
6—13	2	66,7	1	33,3	—	—	—	—	0,3	3
14—18	—	—	6	66,7	3	33,3	—	—	2,6	9
19—25	—	—	—	—	4	66,7	2	33,3	5,3	6
26—33	—	—	—	—	1	6,2	5	93,8	10	16
34—60	—	—	—	—	3	100	—	—	4,0	3
61—96	—	—	—	—	1	100	—	—	4,0	1
110—131	—	—	2	100	—	—	—	—	2,0	2

TABELA V

Resultados das reações de fixação de complemento em relação a grupo etário
 Maior de 31

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	13	92,9	1	7,1	—	—	—	—	0,0	10
3—5	9	81,8	2	18,2	—	—	—	—	0,3	11
6—13	1	14,2	6	85,8	—	—	—	—	1,7	7
14—18	1	6,6	10	66,8	4	26,6	—	—	2,4	15
19—25	—	—	2	15,3	7	53,8	4	30,9	4,7	13
26—33	—	—	—	—	2	15,3	11	84,7	9,7	13
34—60	—	—	—	—	2	50,0	2	50,0	6,0	4
61—96	—	—	—	—	5	71,4	2	28,6	5,1	7
110—131	—	—	2	33,3	4	66,7	—	—	3,3	6

TABELA VI

Resultados das reações de fixação de complemento em relação ao número de doses de vacina

14 doses

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	7	87,5	1	12,5	—	—	—	—	0,2	8
3—5	6	75,0	2	25,0	—	—	—	—	0,5	8
6—13	2	20,0	7	70,0	1	10,0	—	—	1,8	10
14—18	—	—	8	80,0	2	20,0	—	—	2,4	10
19—25	—	—	—	—	5	71,5	2	28,5	5,1	7
26—33	—	—	—	—	—	—	9	100	14,2	9
34—60	—	—	—	—	1	50,0	1	50,0	6,0	2
61—96	—	—	—	—	2	50,0	2	50,0	6,0	4
110—131	—	—	1	50,0	1	50,0	—	—	3,0	2

TABELA VII

Resultados das reações de fixação de complemento em relação ao número de doses de vacina

21 doses

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	29	91,3	3	8,7	—	—	—	—	0,18	32
3—5	23	82,2	5	17,8	—	—	—	—	0,35	28
6—13	4	20,0	13	65,0	3	15,0	—	—	1,9	20
14—18	1	3,4	18	60,0	11	36,6	—	—	2,6	30
19—25	—	—	4	12,1	22	66,7	7	21,2	4,6	33
26—33	—	—	—	—	2	7,4	25	92,6	11,3	27
34—60	—	—	—	—	5	71,4	2	28,6	5,1	7
61—96	—	—	—	—	8	61,5	5	38,5	5,5	13
110—131	—	—	7	50,0	6	42,9	1	7,1	3,2	14

TABELA VIII

Resultados das reações de fixação de complemento em relação ao número de doses de vacina

28 doses

Número de dias após a 1. ^a dose de vacina	R E S U L T A D O S								Média de Títulos	Total de Casos
	N e g a t i v o		1/2		1/4		1/8			
	Nº.s Abs.	%	Nº.s Abs.	%	Abs. Nº.s	%	Nº.s Abs.	%		
0—2	28	100	—	—	—	—	—	—	0,0	28
3—5	22	75	6	25	—	—	—	—	0,4	28
6—13	3	25	9	75	—	—	—	—	1,5	12
14—18	—	—	17	58,6	12	41,4	—	—	2,8	29
19—25	—	—	1	4	16	64,0	8	32,0	5,2	25
26—33	—	—	—	—	3	11,5	23	88,5	9,7	26
34—60	—	—	—	—	1	33,3	2	66,7	6,6	3
61—96	—	—	—	—	4	28,5	10	71,5	7,4	14
110—131	—	—	2	66,7	1	33,3	—	—	2,6	3

ção adiciona-se 0,1 ml de hemácias sensibilizadas (hemácias de carneiro a 2%) e incuba-se novamente durante 30 minutos a 37°C. Após essa segunda incubação, com movimentos suaves na placa por alguns minutos a placa é levada ao refrigerador por 30 minutos (para agrupar as hemácias) quando então os resultados são lidos.

RESULTADOS

Os resultados foram apurados em relação ao número de doses de vacina a que o paciente se submeteu e também em relação ao grupo etário, por décadas, até a terceira e daí em diante em um só grupo acima de 31 anos.

Os resultados acham-se resumidos nas tabelas I a VIII.

COMENTÁRIOS

A reação de Fixação de Complemento em placas usando como antígeno a vacina preparada segundo Fuenzalida & Palacios mostrou ser um método simples para se acompanhar a anticorpogênese em vacinados contra raiva.

O fato já demonstrado (3) de que esses anticorpos têm uma equivalência, passível de ser avaliada, aos títulos protetores da soro-neutralização, confere à técnica um lugar de destaque no estudo da imunologia da raiva.

Acresce como vantagem do seu emprego, a facilidade de se obter o antígeno, e a relativa sim-

plicidade de execução da técnica mesmo em laboratórios não muito aparelhados, desde que contem com pessoal bem treinado.

No que tange à perspectiva do seu emprego, nos parece ser mais um elemento que, se empregado devidamente, virá permitir o estabelecimento de esquemas de imunização anti-rábica bem mais racionais, econômicos e menos arriscados.

Desde 1885, quando pela primeira vez Pasteur usou a vacina anti-rábica, os esquemas de vacinação têm sido discutidos e grandemente variáveis. Embora na atualidade a Organização Mundial de Saúde recomende 14 doses de vacina, esse esquema não é seguido pela totalidade das Instituições de Profilaxia Anti-rábica.

Em nossa experiência com 4 grupos de vacinados com 7, 14, 21 e 28 doses de vacina, observamos que os vacinados com 28 e 21 doses, em nenhum período de tempo, apresentaram anticorpogênese mais intensa do que aqueles vacinados com apenas 14 doses. Aliás ocorreu o contrário, pois o grupo de 14 doses no período compreendido entre o 26.^o e o 33.^o dias após a primeira dose da vacina apresentou títulos muito superiores aos grupos de 21 e 28 doses nesse mesmo período de tempo. Isso equivale dizer que não há a mínima vantagem em se prescrever mais de 14 doses de vacina, pois, doses mais elevadas apenas aumentariam o risco potencialmente crescente da instalação de reações

graves, inclusive a "síndrome" neuro-paralítica por desmielinização.

O grupo que se submeteu a 7 doses não foi controlado.

SUMMARY

EVALUATION OF ANTIBODY FORMATION BY MEANS OF THE COMPLEMENT FIXATION TEST IN PLATES IN PERSONS VACCINATED AGAINST RABIES.

The kinetics of antibody formation were studied by means of a complement fixation microtechnique in plates in 110 persons who had been vaccinated against rabies with different types of vaccine. Rabies vaccine prepared ac-

cording to Fuenzalida and Palacios was used as antigen. Titers of antibodies, considered protective, were detectable about 15 days after administration of the first dose of vaccine.

The schedule of 14 doses was found to confer complete immunity within this period. This was based on determination of the titers of complement-fixing antibodies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FULTON, F. & DUMBELL, K.R. — The serological comparison of strains of influenza virus. *J. Gen. Microbiol.* 3:97-101, 1948.
Organização de Saúde do Estado de Goiás — Informação Pessoal.
2. PEREIRA, O.A.C. e Cols. — Complement Fixation Test in evaluation of immunity against rabies. *Rev. Microbiol.* 1: 85-91, 1970.