

REVISÃO DE DADOS DA EPIDEMIOLOGIA E ETIOLOGIA DO SARAMPO E SUBSÍDIOS PARA A VACINAÇÃO CONTRA A DOENÇA [♀]

RICARDO VERONESI*
ARY WALTER SCHMID **
ROBERTO DE ALMEIDA MOURA***
RENATO P. S. CARVALHO****
WALDEMAR A. ZUCCAS*****
MÁRIO CAMARGO*****

- I — Avaliação do sarampo como problema de Saúde Pública no Brasil. Estudo comparativo com outros países e vários municípios brasileiros.
- II — Evolução histórica dos conhecimentos sobre a natureza etiológica do sarampo e das primeiras experimentações sobre sua imunização.
- III — Suscetibilidade de diferentes culturas de tecidos ao vírus do sarampo. Efeito citopático.
- IV — Relações entre os vírus do sarampo, cinomose e peste bovina.
- V — Provas imunológicas utilizadas no estudo do sarampo.
- VI — Vacinas atenuadas (vírus vivos). Inquéritos clínico-sorológicos. Nossa experiência.
- VII — Vacinas inativadas (vírus mortos). Inquéritos clínico-sorológicos. Nossa experiência.

PARTE I

AVALIAÇÃO DO SARAMPO COMO PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL. ESTUDO COMPARATIVO COM OUTROS PAÍSES E VÁRIOS MUNICÍPIOS BRASILEIROS

INTRODUÇÃO

Apresentaremos alguns dados sobre os caracteres epidemiológicos do sarampo, ou seja, sobre a morbidade e a mortalidade pela doença. A maioria

[♀] Recebido para publicação em 5-5-1963.
* Docente de Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas da Faculdade de Medicina da USP.
** Docente de Epidemiologia e Profilaxia Gerais e Especiais da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
*** Diretor do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.
**** Assistente do Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
***** Pediatra da Creche Catharina Labourê, São Paulo.
***** Assistente do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

destas informações ainda não se encontra publicada, e se deve à gentileza do Departamento de Estatística do Estado de São Paulo (D.E.E.S.P.), da Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais (S.E.P.G.) e da Divisão do Serviço do Interior (D.S.I.), pertencentes estas últimas ao Departamento de Saúde da Secretaria da Saúde Pública e da Assistência Social do Estado de São Paulo.

Compararemos o sarampo com outras doenças e examinaremos a sua distribuição geográfica, cronológica e segundo alguns atributos da população, o que será útil para nos orientar a respeito da profilaxia do sarampo, e em particular sobre os grupos que de preferência deverão ser vacinados.

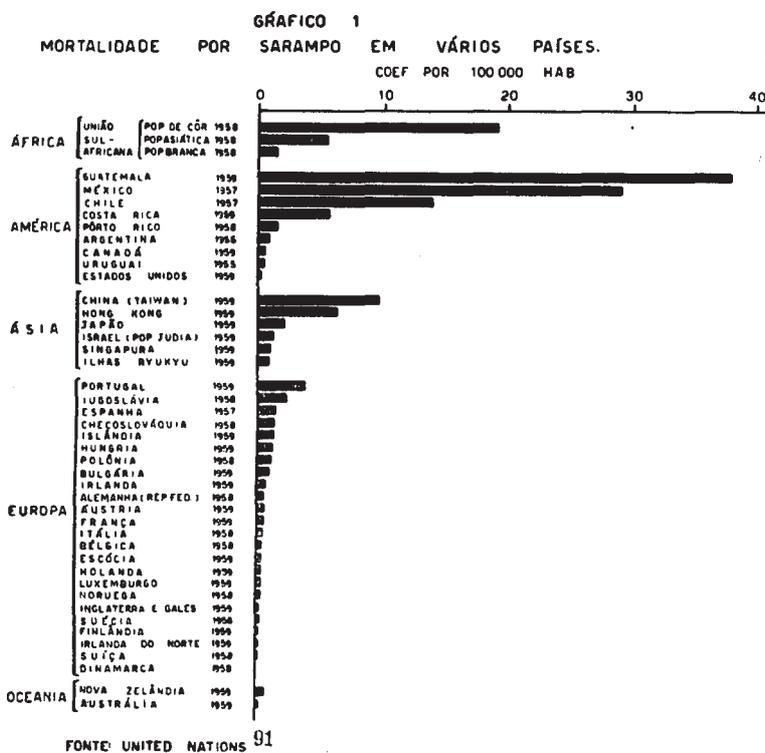
1. — *Distribuição geográfica*: O sarampo tem uma distribuição cosmopolita, o que é a regra, aliás, no caso das moléstias disseminadas pelas secreções oronasais. Na tabela 1 e gráfico 1 apresentamos a mortalidade por sarampo em vários países cujos dados eram bastante fidedignos e completos, informação que resumimos de uma publicação das Nações Unidas.⁹¹ Verifi-

Tabela 1.
Mortalidade por sarampo em vários países.

Continentes	País	Ano	Nº de Óbitos	Conf. por 100.000 hab.
África	União Sul-Africana	1958	260	19,1
	" asiática	1958	24	5,4
	" branca	1958	43	1,4
América	Guatemala	1959	1.379	37,8
	México	1957	9.116	29,0
	Chile	1957	986	13,8
	Costa Rica	1959	62	5,5
	Porto Rico	1958	32	1,4
	Argentina	1956	156	0,8
	Canada	1959	84	0,5
	Uruguai	1955	11	0,4
	Estados Unidos	1959	380	0,2
	Ásia	China (Taiwan)	1959	971
Hong Kong		1959	176	6,2
Japão		1959	1.883	2,0
Israel (pop. judia)		1959	21	1,1
Singapura		1959	15	0,9
Ilhas Ryukyu		1959	7	0,8
Europa	Portugal	1959	339	3,7
	Iugoslávia	1958	119	2,2
	Espanha	1957	376	1,3
	Checoslováquia	1958	155	1,2
	Islândia	1959	2	1,2
	Hungria	1959	113	1,1
	Polónia	1958	280	1,0
	Bulgária	1959	68	0,9
	Irlanda	1959	18	0,6
	Alemanha (Rep.Federal)	1958	251	0,5
	Austria	1959	37	0,5
	França	1959	239	0,5
	Itália	1958	179	0,4
	Bélgica	1958	23	0,3
	Escócia	1959	18	0,3
	Holanda	1959	39	0,3
	Luxemburgo	1959	1	0,3
	Noruega	1958	11	0,3
	Inglaterra e Gales	1959	98	0,2
	Suécia	1958	17	0,2
Finlândia	1959	6	0,1	
Irlanda do Norte	1959	2	0,1	
Suíça	1958	4	0,1	
Dinamarca	1958	2	0,0	
Oceania	Nova Zelândia	1959	13	0,6
	Austrália	1959	20	0,2

Fonte : United Nations⁹¹

ca-se que os coeficientes atingem níveis elevados, especialmente em alguns países das Américas: a Guatemala, por exemplo, apresentava em 1959 uma mortalidade de 37,8 por 100.000 habitantes, e o México, em 1957, cêrca de 30. Note-se que êste parece ser o nível endêmico da mortalidade nesses países, e não flutuações ocasionais, pois o primeiro apresentava em 1956, 1957 e 1958 os coeficientes de 68,5 — 34,3 e 102,6 respectivamente, e o México, em 1955 e 1956, 32,7 e 6,8 por 100.000 habitantes. Portanto, o sarampo ainda consti-



tui um problema de Saúde Pública nas Américas se encarado quanto à sua mortalidade, ao contrário do que ocorre nos outros continentes, em que os coeficientes são muito menores.

Não temos dados globais sôbre a incidência do sarampo no Brasil mas apenas sôbre as capitais estaduais: em algumas destas (tabela 2 e gráficos 2 e 3) a morbidade e a mortalidade chegam a valores muito elevados. Em Pôrto Alegre, por exemplo, a morbidade era de aproximadamente 300 por 100.000 habitantes em 1958, cifra elevada sem dúvida mas que deve representar apenas uma pequena parte dos casos realmente ocorridos: como se sabe, a notificação às autoridades sanitárias é bastante falha, especialmente quando se trata de moléstias benignas como o sarampo. Além disto, em várias capitais

brasileiras os dados são incompletos, pois se referem a 11 meses ou menos. A mortalidade pelo sarampo em várias destas capitais é também elevada, tendo-se o coeficiente máximo em Manaus (51,27 por 100.000 habitantes em

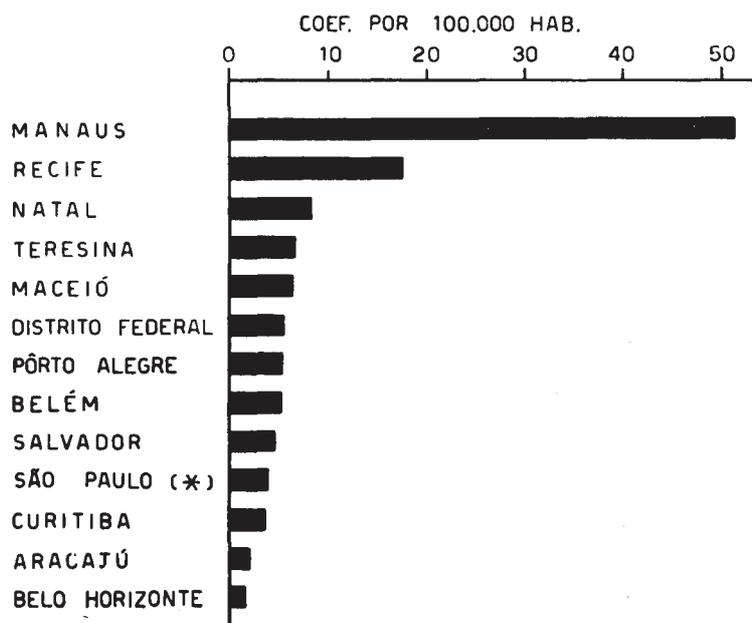
Tabela 2.
Morbidade e mortalidade por sarampo no Distrito Federal e capitais brasileiras (1958).

Capital	Morbidade		Mortalidade	
	Nº de casos (**)	Coef. por 100.000 hab.	Nº de óbitos (**)	Coef. por 100.000 hab.
Pôrto Alegre	1.717 (*)	291,74	31	5,27
Curitiba	825	255,58	11	3,41
Manaus	227	135,34	86	51,27
Florianópolis	26 (*)	28,28
Recife	203	27,46	128	17,32
Fortaleza	117	25,29
Distrito Federal (Rio de Janeiro)	7/2	24,83	166	5,34
São Paulo	803(****)	23,69	127 (***)	3,75
João Pessoa	32	22,67
Maceió	29	18,16	10	6,26
Cuiabá	6 (*)	11,86
Salvador	67	11,08	27	4,46
Vitória	8 (*)	10,27
Belém	30	8,21	19	5,20
Natal	11	7,43	12	8,10
Terresina	7 (*)	5,60	8	6,41
Goiania	7	5,41
São Luís	7 (*)	4,91
Aracaju	3	2,78	2	1,86
Belo Horizonte	13	2,09	9	1,45

(*) Dados incompletos
Fontes : (**) Silva⁸³
(***) D.E.E.S.P.
(****) S.E.P.G.

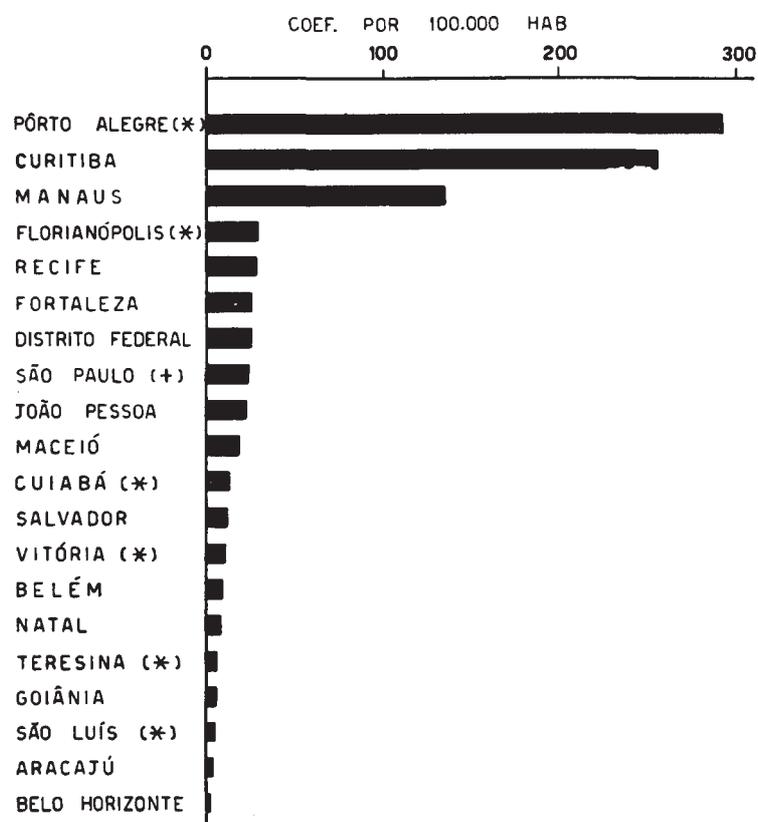
1958), município em que o sarampo era a 5.^a causa de óbito em tôdas as idades e ocupava o 3.^o lugar entre as doenças infecciosas e parasitárias, sendo suplantado apenas pela tuberculose e pelas disenterias. Em outras capitais brasileiras esta moléstia ocupava, em 1958, uma posição menos destacada como causa de morte em tôdas as idades, em relação às outras moléstias. No entanto, o sarampo era no mesmo ano uma das doenças infecciosas e parasitárias que mais óbitos provocava: no Município de Pôrto Alegre, por exemplo, estava em 3.^o lugar, suplantado apenas pela tuberculose e pela sífilis; no Município de São Paulo e no Distrito Federal (Rio de Janeiro), ocupava o 4.^o lugar entre as doenças infecciosas e parasitárias, após a tuberculose, sífilis e disenterias na 1.^a destas capitais e após a tuberculose, tétano e sífilis na última. Êstes dados oficiais de mortalidade representam também um mínimo em relação ao número real de óbitos por sarampo: como é sabido, a pneumonia é a principal complicação desta moléstia, e leva muitas vèzes à morte; por ignorância das regras de declaração de óbito ou por atenderem os doentes na fase

GRÁFICO 3
MORTALIDADE POR SARAMPO NO DISTRITO FEDERAL
E CAPITAIS BRASILEIRAS (1958).



Fonte : Silva⁹⁸ (*) D.E.E.S.P.

GRÁFICO 2
MORBIDADE POR SARAMPO NO DISTRITO FEDERAL
E CAPITAIS BRASILEIRAS (1958).



Fonte : Silva⁸³ (+) S.E.P.G.
(*) Dados Incompletos.

final da enfermidade, muitos médicos atestam erradamente a pneumonia como a causa da morte. Disto resulta um número de óbitos por pneumonia maior que o real e, ao mesmo tempo, um conhecimento incompleto do número de mortes por sarampo.

Os dados oficiais a respeito da morbidade por várias doenças transmissíveis em 20 capitais brasileiras (tabela 3) indicam que o sarampo ocupa o

Tabela 3.
Morbidade por várias doenças transmissíveis no Distrito Federal e capitais brasileiras (1958).

Doenças	Nº de casos (*)	Coef. por 100.000 hab.
Tuberculose	13.298	114,31
Gripe	9.215	79,21
Coqueluche	7.099	61,02
S A R A M P O	4.905	42,16
Febres tifóidicas	3.756	32,29
Difteria	3.273	28,13
Disenterias	2.191	18,83
Variola (inclusive alastrim)	1.148	9,87
Poliomielite	1.030	8,85
Infecções meningocócicas	278	2,39
Escarlatina e angina estreptocócica	211	1,81
Febre amarela	-	-
Peste	-	-
Tifo exantemático	-	-

Obs.: 1. Dados referentes a Aracajú, Belém, Belo Horizonte, Cuiabá, Curitiba, Distrito Federal (Rio de Janeiro), Florianópolis, Fortaleza, Goiânia, João Pessoa, Maceió, Manaus, Natal, Porto Alegre, Recife, Salvador, São Luis, São Paulo, Teresina, e Vitória.

2. Estimativa da população presente em 1-7-1958:
11.633.621 habitantes.

Fonte: (*) Silva²⁸

4.º lugar. No Município de São Paulo e no Interior do Estado (tabelas 4 e 5) o sarampo se encontra em 2.º lugar. Note-se que no Município houve uma epidemia de difteria em 1959, e que mesmo assim o número de casos de sarampo é pouco inferior ao daquela doença. Quanto ao Interior, somente a "gripe", ou melhor, a síndrome gripal, causada por um sem número de agentes etiológicos, suplantou o sarampo, que neste sentido foi mais importante que qualquer outra doença transmissível. Deve-se observar, todavia, que a comparabilidade entre estas doenças é grandemente prejudicada pelo fato de ser a notificação mais precária nas mais benignas, que é exatamente o caso do sarampo.

Poder-se-ia argumentar que os dados de morbidade não são muito dignos de crédito, e que o significado de um caso de sarampo não é o mesmo que um de lepra ou raiva, por exemplo. Contudo, se observarmos a *mortalidade* por

Tabela 4.

Morbidade por várias doenças transmissíveis
no Município de São Paulo (1959-1961).

Doenças	Nº de casos (**)		Coef. médios por	
	Total	Média anual	100.000	hab.
Difteria	3.444	1.148	31,20	
S A R A M P O	3.114	1.038	28,21	
Poliomielite aguda	1.717	572	15,55	
Variola	1.003	334	9,08	
Varicela	717	239	6,50	
Febres tifóidicas	538	179	4,87	
Hepatite infecciosa	508	169	4,59	
Tétano (*)	299	150	4,08	
Escarlatina	243	81	2,20	
Meningite meningocócica	229	76	2,07	
Caxumba	178	59	1,60	
Doença de Weil	95	32	0,87	
Mononucleose infecciosa	81	27	0,73	
Rubéola	50	17	0,46	

Obs.: Estimativa da população presente média:
3.679.081 habitantes.

(*) Dados apenas de 1960 e 1961.

Fonte: (**) S.E.P.G.

Tabela 5.

Morbidade por várias doenças transmissíveis
no Interior de São Paulo.
(1959 - 1961)

Doenças	Nº de casos (*)		Coef. médios por	
	Total	Média anual	100.000	hab.
Gripe	24.012	8.004	86,78	
S A R A M P O	7.783	2.594	28,12	
Coqueluche	5.513	1.838	19,93	
Disenterias	5.304	1.768	19,17	
Varicela	5.045	1.682	18,24	
Difteria	4.450	1.483	16,08	
Tétano	3.913	1.304	14,14	
Variola	3.810	1.270	13,77	
Caxumba	2.952	984	10,67	
Poliomielite aguda	2.305	768	8,33	
Febres tifóidicas	1.323	441	4,78	
Hepatite infecciosa	972	324	3,51	
Meningite não especificada	685	228	2,47	
Encefalite infecciosa	327	109	1,18	
Rubéola	318	106	1,15	
Meningite meningocócica	266	89	0,96	
Leishmaniose	191	64	0,69	
Escarlatina	93	31	0,34	

Obs.: Estimativa da população presente média: 9.223.842 habitantes.

Fonte: (*) D. S. I.

Tabela 6.

Mortalidade por doenças infecciosas e parasitárias (*)
no Município de São Paulo
(1959-1961).

Doenças	Nº de Óbitos (**)		Coef. médios por 100.000 hab.
	Total	Média anual	
Tuberculose	2.902	967	26,29
S A R A M P O	844	281	7,65
Tétano	448	149	4,06
Sífilis e suas seqüelas	419	140	3,80
Poliomielite aguda	348	116	3,15
Disenterias	320	107	2,90
Difteria	312	104	2,83
Coqueluche	224	75	2,03
Infecções meningocócicas	87	29	0,79
Raiva	34	11	0,31
Variola	19	6	0,17
Lepra	18	6	0,16
Febre tifóide	17	6	0,15
Escarlatina e angina estrept.	7	2	0,06
Tifo e outras Riquetsioses	4	1	0,04
Malaria	4	1	0,04
Cólera	-	-	-
Febre amarela	-	-	-
Peste	-	-	-

(*) Rubricas B1 a B17 da Classificação Internacional de doenças e causas de morte.

(**) Fonte: D.E.E.S.P.

Tabela 7.

Mortalidade por doenças infecciosas e parasitárias (*)
no Interior de São Paulo
(1959-1961).

Doenças	Nº de Óbitos(**)		Coef. médios por 100.000 hab.
	Total	Média anual	
Tuberculose	5.368	1.789	19,40
Tétano	3.624	1.208	13,10
Disenterias	2.103	701	7,60
S A R A M P O	1.078	359	3,90
Lepra	887	296	3,21
Sífilis e suas seqüelas	716	239	2,59
Difteria	681	227	2,46
Coqueluche	527	176	1,90
Poliomielite aguda	214	71	0,77
Infecções meningocócicas	135	45	0,49
Febre tifóide	74	25	0,27
Malaria	59	20	0,21
Variola	43	14	0,16
Raiva	23	8	0,08
Escarlatina e angina estrept.	7	2	0,03
Tifo e outras Riquetsioses	4	1	0,01
Cólera	-	-	-
Febre amarela	-	-	-
Peste	-	-	-

(*) Rubricas B1 a B17 da Classificação Internacional de doenças e causas de morte.

(**) Fonte: D.E.E.S.P.

doenças infecciosas e parasitárias nesta Capital e no Interior de São Paulo (tabelas 6 e 7), veremos que o sarampo, surpreendentemente, se coloca em 2.º e em 4.º lugar respectivamente, suplantando muitas doenças temíveis e importantes, como por exemplo a difteria, a sífilis, a poliomielite aguda e a varíola. Estes dados justificam plenamente um programa de controle do sarampo em nosso Estado que, na prática, só poderá ser feito através da vacinação dos grupos suscetíveis.

2. — *Distribuição cronológica*: No sarampo ocorre o mesmo que nas outras moléstias transmissíveis: a tendência secular da mortalidade denota uma queda notável. Na tabela 8 se verifica que, nos últimos 50 ou 60 anos, houve uma redução de mais de 90% nos coeficientes em vários países europeus;

Tabela 8.
Mortalidade por sarampo em vários países europeus
no início do século e na atualidade
(Coef. por 100.000 hab.)

País	Início do século (*)		Atualidade (**)		Redução (1)-(2) (1)	(1) (2)
	(1)	Ano	(2)	Ano		
Suíça	24,8	1901	0,1	1958	99,6	248,0
Holanda	52,5	1901	0,3	1959	99,4	175,0
Inglaterra e Gales	27,7	1901	0,2	1959	99,3	138,5
Escócia	36,9	1901	0,3	1959	99,2	123,0
Bélgica	30,2	1901	0,3	1958	99,0	100,7
Espanha	98,9	1901	1,3	1957	98,7	76,1
Itália	17,1	1901	0,4	1958	97,7	42,8
Suécia	7,3	1901	0,2	1958	97,3	36,5
França	9,6	1906	0,5	1959	94,8	19,2
Noruega	4,6	1901	0,3	1958	93,5	15,3
Portugal	25,0	1902	3,7	1959	85,2	6,8

Fontes : (*) Rapp⁶⁹
(**) United Nations⁷¹

na Suíça esta redução chegou a 99,6%, ou seja, a mortalidade por esta doença no início do século era 248 vezes maior que na atualidade.

Nas tabelas 9 e 10 e nos gráficos 4 e 5 temos a morbidade e a mortalidade pelo sarampo no Estado de São Paulo. A mortalidade no Município da Capital se refere a um longo período de tempo (68 anos); embora tenha havido uma queda nos coeficientes, a redução foi relativamente pequena se comparada com a ocorrida nos países europeus. Nota-se também aumentos nos

coeficientes cada dois ou três anos: estas variações cíclicas, que são observadas especialmente no sarampo, devem-se precipuamente às variações na proporção dos suscetíveis à doença. Nos últimos anos, tanto na Capital como no Interior do Estado, os coeficientes têm se mantido estacionários, havendo mesmo uma certa tendência ao aumento no Município da Capital. Portanto, em nosso Estado a situação epidemiológica do sarampo continua inalterada, ao contrário do que ocorre com muitas outras moléstias, que experimentaram grande diminuição em seus coeficientes. Estes fatos vêm reforçar, mais uma

Tabela 9.

Morbidade (1939-1961) e mortalidade (1894-1961) por sarampo no Município de São Paulo.

Anos	Mortalidade		Anos	Mortalidade		Anos	Mortalidade		Morbidade	
	Nº de óbitos (*)	Coef. por 100.000 hab.		Nº de óbitos (*)	Coef. por 100.000 hab.		Nº de óbitos (*)	Coef. por 100.000 hab.	Nº de casos (**)	Coef. por 100.000 hab.
1894	21	16,69	1917	7	1,34	1939	256	20,29	99	7,85
1895	66	46,02	1918	41	7,59	1940	25	1,90	38	2,89
1896	71	44,11	1919	102	18,29	1941	146	10,55	105	7,59
1897	108	60,50	1920	80	13,92	1942	72	4,94	27	1,85
1898	19	9,69	1921	54	9,01	1943	122	7,95	49	3,19
1899	28	15,11	1922	130	20,82	1944	77	4,77	44	2,72
1900	21	9,08	1923	141	21,66	1945	73	4,29	37	2,18
1901	57	22,95	1924	68	10,02	1946	22	1,23	26	1,45
1902	85	32,01	1925	158	22,35	1947	41	2,18	38	2,02
1903	1	0,35	1926	192	26,06	1948	50	2,52	55	2,77
1904	34	11,34	1927	95	12,37	1949	54	2,59	42	2,01
1905	116	36,58	1928	182	22,74	1950	74	3,37	76	3,46
1906	134	40,08	1929	133	15,94	1951	44	1,90	79	3,42
1907	58	16,50	1930	157	18,06	1952	33	1,35	174	7,14
1908	96	26,04	1931	220	24,28	1953	101	3,92	339	13,17
1909	111	28,77	1932	66	6,99	1954	56	2,06	138	5,07
1910	99	24,56	1933	367	37,28	1955	146	5,08	403	14,01
1911	80	19,04	1934	34	3,31	1956	62	2,04	255	8,40
1912	133	30,41	1935	242	22,63	1957	139	4,33	565	17,61
1913	124	27,28	1936	411	36,88	1958	127	3,75	803	23,69
1914	32	6,78	1937	68	5,85	1959	216	6,21	977	28,08
1915	25	5,11	1938	115	9,50	1960	328	8,92	912	24,81
1916	77	15,21				1961	300	7,73	1.225	31,55

Fontes: (*) D. E. E. S. P.

(**) S. E. P. G.

vêz, o conceito de que há necessidade de se tomarem medidas de profilaxia mais enérgicas contra o sarampo.

Ainda na distribuição cronológica temos um aspecto de grande significação para a profilaxia do sarampo, e em especial para a vacinação contra esta moléstia: é a sua distribuição sazonal. Pertencendo ao grupo das doenças respiratórias, o sarampo incide, como estas, de preferência nos meses mais frios do ano. Na tabela 11 assinalamos os meses de incidência máxima e mínima da moléstia em alguns países cujos dados eram fidedignos, completos e numericamente consistentes, segundo a Organização Mundial de Saúde ⁷⁰:

GRAFICO 4
MORTALIDADE (1894-1961) E MORBIDADE (1939-1961) POR SARAMPO
NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO.

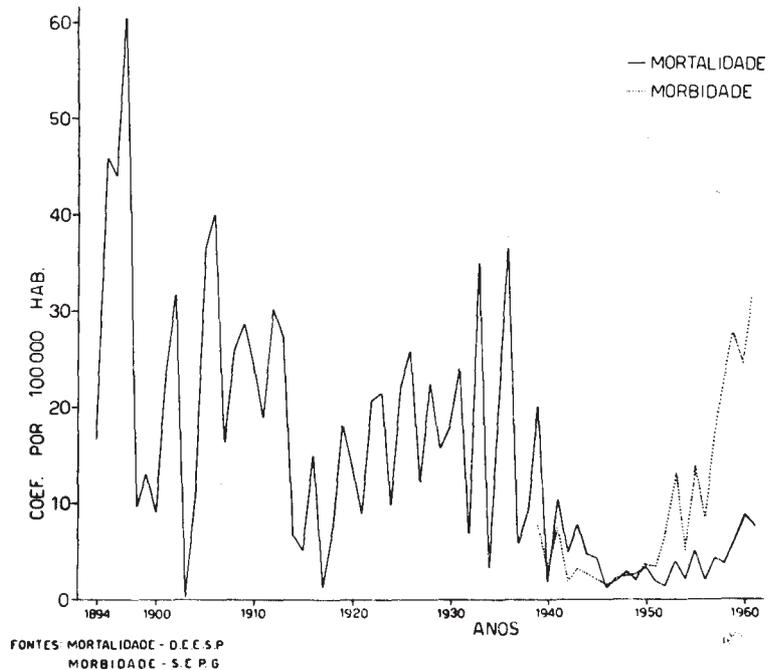


Tabela 10.

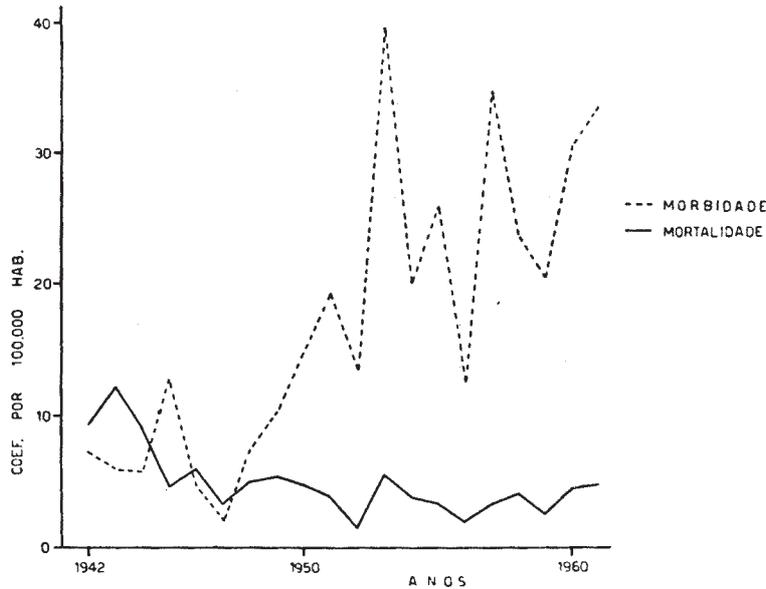
Morbidade e mortalidade por sarampo no Interior de São Paulo (1942-1961)

Anos	Morbidade		Mortalidade	
	Nº de casos (*)	Coef. por 100.000 hab.	Nº de óbitos (**)	Coef. por 100.000 hab.
1942	438	7,23	563	9,29
1943	372	6,03	754	12,22
1944	361	5,75	569	9,06
1945	817	12,78	298	4,66
1946	302	4,65	388	5,97
1947	130	1,97	215	3,25
1948	496	7,38	333	4,95
1949	701	10,26	368	5,39
1950	1.030	14,83	327	4,71
1951	1.362	19,12	274	3,85
1952	980	13,39	110	1,50
1953	2.961	39,37	416	5,53
1954	1.536	19,86	293	3,79
1955	2.048	25,76	265	3,33
1956	1.017	12,45	159	1,95
1957	2.896	34,51	266	3,17
1958	2.036	23,60	349	4,05
1959	1.821	20,30	227	2,53
1960	2.797	30,32	406	4,40
1961	3.165	33,40	445	4,70

Fontes: (*) D.S.I.

(**) D.E.E.S.P.

GRÁFICO 5
MORBIDADE E MORTALIDADE POR SARAMPO NO
INTERIOR DE SÃO PAULO (1942 - 1961).



FONTES: MORBIDADE - D.S.I.
MORTALIDADE - D.E.E.S.P.

Tabela 11.

Meses em que ocorreu o maior e o menor número de casos de sarampo em vários países (com base nas medianas do período 1946 - 1952).

HEMISFÉRIO	PAÍS	M E S E S		Máx. Mín.
		Incidência máxima	Incidência mínima	
Norte	França	3.559-Maio	183-Setembro	19,45
	Suíça (*)	1.375-Março	188-Outubro	7,31
	Dinamarca	6.775-Fevereiro	1.110-Setembro	6,10
	México	3.899-Maio	710-Novembro	5,49
	Noruega	2.525-Janeiro	495-Agosto	5,10
	Finlândia	2.242-Abril	465-Agosto	4,82
Sul	Uruguai	265-Novembro	11-Março	24,09
	Perú	809-Novembro	240-Março	3,37

Fonte : Rapp.^{7º}
(*) Período 1948-1952.

Tabela 12.

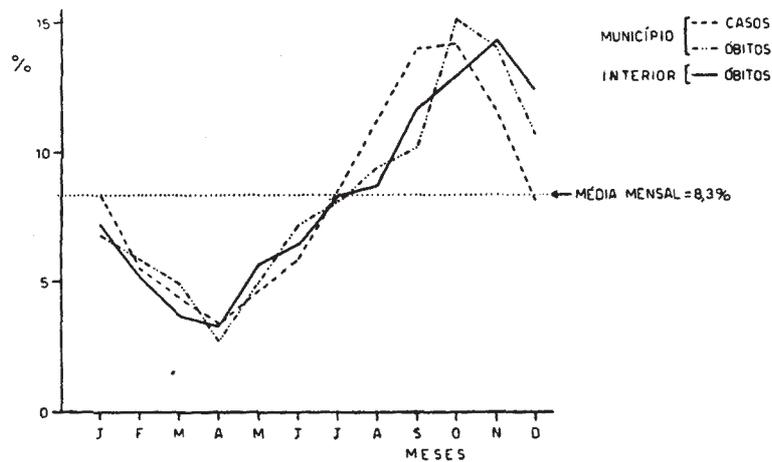
Distribuição mensal dos casos notificados e dos óbitos por sarampo no Município de São Paulo e dos óbitos no Interior do Estado (1959-1961)

Meses	MUNICÍPIO				INTERIOR	
	Casos notificados		Óbitos		Óbitos	
	Nº (*)	%	Nº (**)	%	Nº (**)	%
Total	3.114	100,0	844	100,0	1.078	100,0
Janeiro	260	8,3	57	6,8	78	7,2
Fevereiro	172	5,5	49	5,8	56	5,2
Março	136	4,4	41	4,9	40	3,7
Abril	105	3,4	23	2,7	36	3,3
Maio	147	4,7	42	5,0	61	5,7
Junho	185	5,9	61	7,2	70	6,5
Julho	266	8,5	68	8,1	89	8,3
Agosto	353	11,3	79	9,4	94	8,7
Setembro	434	14,0	86	10,2	126	11,7
Outubro	439	14,2	128	15,1	140	13,0
Novembro	365	11,7	120	14,1	154	14,3
Dezembro	252	8,1	90	10,7	134	12,4

Fontes: (*) S.E.P.G.

(**) D.E.E.S.P.

GRÁFICO 6
DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS CASOS NOTIFICADOS E DOS ÓBITOS POR SARAMPO NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO E DOS ÓBITOS NO INTERIOR DO ESTADO (1959-1961).



FONTES: CASOS - S.E.P.G.
ÓBITOS - D.E.E.S.P.

observa-se que o número de casos era realmente várias vezes maior nos meses correspondentes ao inverno e primavera que no verão.

A distribuição mensal dos casos e dos óbitos por sarampo no Município de São Paulo e a dos óbitos no Interior do Estado (tabela 12 e gráfico 6) confirmam os dados que acabamos de apresentar: a ocorrência máxima deu-se em outubro (Município) e novembro (Interior) e a mínima em abril. Em linhas gerais, a ocorrência foi maior no segundo semestre que no primeiro, havendo cêrca de 5 vezes mais casos e óbitos em outubro que em abril. Este fato se reveste de importância no planejamento de um programa de profilaxia da moléstia: a vacinação, por exemplo, deveria ser feita nos primeiros meses do ano, para que a população esteja imune no segundo semestre, quando a incidência do sarampo é muito mais elevada.

3. — *Distribuição segundo alguns atributos*: Analisaremos apenas a questão da incidência do sarampo segundo a idade, sexo e côr, atributos que têm grande importância epidemiológica.

Os dados da Organização Mundial de Saúde⁷¹, relativos a numerosos países e territórios, indicam que a mortalidade por sarampo é relativamente alta nas primeiras idades, baixando depois rapidamente (tabela 13).

Tabela 13.

Mortalidade por sarampo em um conjunto de países segundo a idade, em 1950 e 1955.

Idade em anos	Nº de óbitos		Coef. por 100.000 hab.	
	1950	1955	1950	1955
Total	14.488	14.494	2,75	2,57
< 1	2.066	1.391	19,32 (*)	12,99 (*)
1 - 4	3.256	1.877	8,03	4,56
5 - 9	507	418	1,20	0,82
10 -14	93	57	0,24	0,13

Obs.1: Não há dados sobre o sarampo como causa isolada a partir de 15 anos de idade.

2: Os totais se referem a um grupo de 28 países e territórios (527 milhões de habitantes em 1950 e 564 milhões em 1955); os dados por idade se referem a um grupo de 19 países (483 milhões de habitantes em 1950 e 515 milhões em 1955).

* Coef. por 100.000 nascidos vivos.

Fonte : Rapp.⁷¹

Em trabalho de Schmid⁸⁰ foi assinalada a importância do sarampo como causa de morte nas crianças de 0 a 9 anos de idade. Na tabela 14 resumimos

Tabela 14.
Colocação do sarampo como causa de morte no
Município de São Paulo segundo a idade
(1959 - 1960).

Idade em anos	Colocação como causa de morte	Nº de óbitos (1959+1960)	Mortalidade proporcional em %
Total	17ª	544	0,89
< 1	9ª	169	1,13
1	3ª	200	9,13
2	3ª	95	9,95
3	4ª	39	7,85
4	7ª	15	4,50
5 - 9	8ª	24	3,00
10 e +	36ª	2	0,00

Fonte: D. E. E. S. P.

estes dados, que indicam estar o sarampo entre as 10 moléstias que mais óbitos provocaram neste grupo etário, na Capital de São Paulo; nas crianças de 1 e 2 anos, o sarampo era a 3.a causa de morte, sendo responsável por mais de 9% dos óbitos por tôdas as causas (mortalidade proporcional de 9, 13 e 9,95% respectivamente).

No Estado de São Paulo a morbidade e a mortalidade são realmente muito elevadas nas crianças de 0 a 2 anos de idade, decrescendo em seguida e tornando-se quase nulas a partir dos 10 anos (tabela 15 e gráficos 7 e 8). Estes dados indicam que 85,4% dos casos e 95,4% dos óbitos por sarampo no Município de São Paulo ocorreram antes dos 5 anos de idade, e que 90,9% dos óbitos no Interior de São Paulo se deu no mesmo grupo de 0 - 4 anos. Por outro lado, os coeficientes são praticamente iguais nos dois sexos em quase tôdas as idades. Tanto na Capital como no Interior do Estado a incidência máxima se verifica nas crianças de 1 ano de idade: logo, é evidente que a vacinação contra a doença deverá ser iniciada nos menores de 1 ano.

Ainda no sentido de determinar a época mais apropriada para a vacinação elaboramos a tabela 16, que indica muito claramente ser a doença mais comum e causar mais óbitos a partir dos 6 meses de idade, o que, aliás, está inteiramente

Tabela 15.
 Morbidade e mortalidade por sarampo no Município de São Paulo e mortalidade no Interior do Estado
 segundo idade e sexo (1959-1961).

Idade em anos	M U N I C I P I O						I N T E R I O R					
	M O R B I D A D E			M O R T A L I D A D E			M O R B I D A D E			M O R T A L I D A D E		
	Total	Masc.	Fem.	Total	Masc.	Fem.	Total	Masc.	Fem.	Total	Masc.	Fem.
	Nº de casos (*)	Nº de casos (**)	Coef. (***)	Nº de casos (*)	Nº de casos (**)	Coef. (***)	Nº de casos (*)	Nº de casos (**)	Coef. (***)	Nº de casos (*)	Nº de casos (**)	Coef. (***)
Total	3.114	28,21	1,564	28,68	1.550	27,76	844	7,65	412	7,56	432	7,74
<	612	21,92	306	20,36	306	21,61	278	96,72	135	92,36	143	101,23
1	945	33,88	486	37,84	459	36,19	309	122,25	150	116,80	159	127,89
2	562	20,36	282	22,13	280	23,71	141	57,80	79	63,63	62	51,75
3	349	14,84	165	13,84	184	15,80	52	22,11	23	19,28	29	25,03
4	190	8,48	95	86,16	95	86,84	25	11,51	9	8,16	16	14,96
5-9	315	31,77	149	29,79	166	33,78	37	3,73	16	3,20	21	4,27
10-14	43	4,36	22	4,56	21	4,17	2	0,20	-	-	2	0,40
15-19	30	2,76	20	3,88	10	1,75	-	-	-	-	-	-
20-29	53	2,16	33	2,72	20	1,61	-	-	-	-	-	-
30-39	11	0,64	3	0,70	5	0,58	-	-	-	-	-	-
40 e +	4	0,16	-	-	4	0,31	-	-	-	-	-	-
Ignorada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)	Nº de Coef. (***)			
Total	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90
<	300	30,59	300	30,96	300	30,96	300	30,59	154	30,96	146	30,20
1	349	41,47	349	38,33	349	38,33	349	41,47	164	38,33	185	44,72
2	171	19,46	171	17,76	171	17,76	171	19,46	79	17,76	92	21,21
3	102	11,91	102	11,27	102	11,27	102	11,91	49	11,27	53	12,57
4	58	7,22	58	7,22	58	7,22	58	7,22	20	7,22	23	9,60
5-9	75	2,07	75	2,27	75	2,27	75	2,07	42	2,27	33	1,85
10-14	12	0,37	12	0,36	12	0,36	12	0,37	6	0,36	6	0,37
15-19	3	0,20	3	0,27	3	0,27	3	0,20	4	0,27	3	0,13
20-29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30-39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40 e +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ignorada	2	-	2	-	2	-	2	-	1	-	1	-

Fontes: (*) S.E.P.G. (soma dos casos no período 1959-1961).

(**) D.E.S.P. (soma dos óbitos no período 1959-1961).

(***) Coeficientes médios por 100.000 habitantes, específicos por idade.

GRÁFICO 7
MORBIDADE E MORTALIDADE POR SARAMPO NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO SEGUNDO IDADE E SEXO (1959 - 1961).

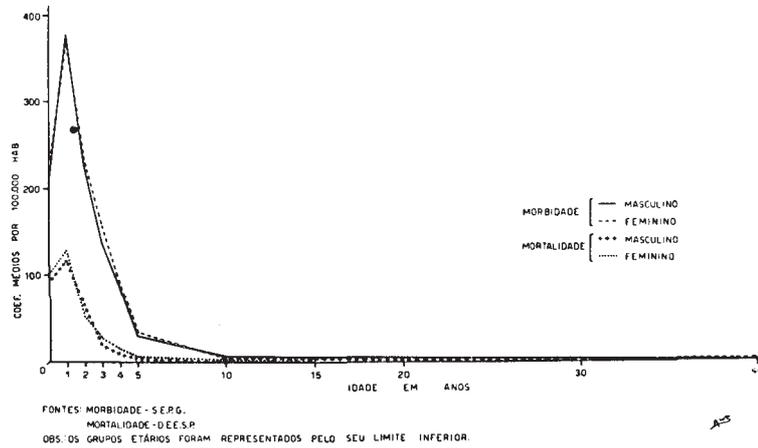
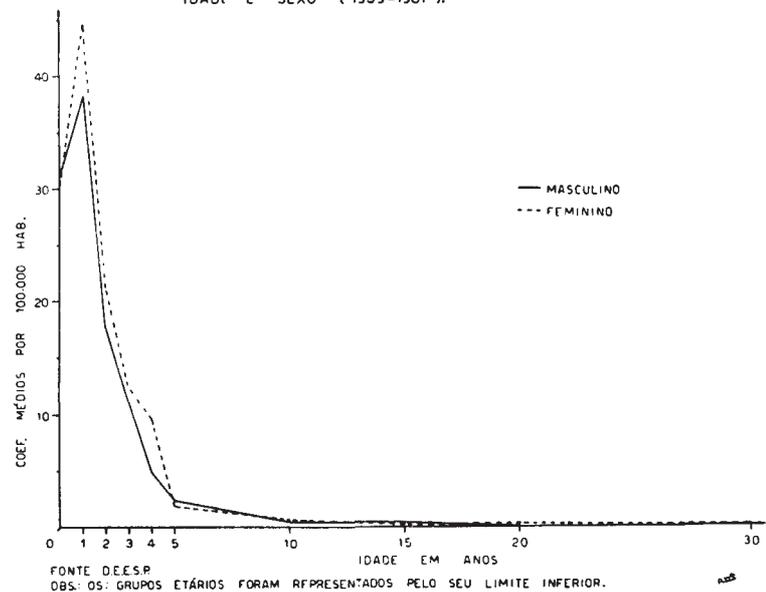


GRÁFICO 8
MORTALIDADE POR SARAMPO NO INTERIOR DE SÃO PAULO SEGUNDO IDADE E SEXO (1959 - 1961).



te de acôrdo com a imunização passiva transplacentária conferida pelo organismo materno ao feto, e que perdura por alguns meses após o nascimento. Verificamos que até 5 meses de idade, inclusive, houve apenas 11,2% dos casos e 16,9% dos óbitos em relação ao total observado nas crianças de 0 - 1 ano neste Município, ao passo que no Interior a proporção dos óbitos nas crianças de 0 - 5 meses subiu a 26,3%. Concluímos que a vacinação contra o sarampo feita muito precocemente evitaria a maior parte dos casos e dos óbitos pela

Tabela 16.

Distribuição dos casos notificados e dos óbitos por sarampo no Município de São Paulo e dos óbitos no Interior do Estado nos menores de 1 ano, segundo a idade (1959 - 1961).

Idade em meses	MUNICÍPIO						INTERIOR		
	Casos			Óbitos			Óbitos		
	Nº (*)	%	% acumulada	Nº (**)	%	% acumulada	Nº (**)	%	% acumulada
Total	612	100,0	100,0	278	100,0	100,0	300	100,0	100,0
< 1	-	-	-	-	-	-	8	2,7	2,7
1	4	0,7	0,7	3	1,1	1,1	9	3,0	5,7
2	6	1,0	1,7	5	1,8	2,9	10	3,3	9,0
3	8	1,3	3,0	5	1,8	4,7	11	3,7	12,7
4	16	2,6	5,6	12	4,3	9,0	16	5,3	18,0
5	34	5,6	11,2	22	7,9	16,9	25	8,3	26,3
6	54	8,8	20,0	39	14,0	30,9	36	12,0	38,3
7	77	12,6	32,6	28	10,1	41,0	29	9,7	48,0
8	95	15,5	48,1	37	13,3	54,3	38	12,7	60,7
9	109	17,7	65,8	37	13,3	67,6	42	14,0	74,7
10	107	17,5	83,3	48	17,3	84,9	47	15,6	90,3
11-12	102	16,7	100,0	42	15,1	100,0	29	9,7	100,0

Fontes: (*), S.E.P.G.

(**) D.E.E.S.P.

Tabela 17.

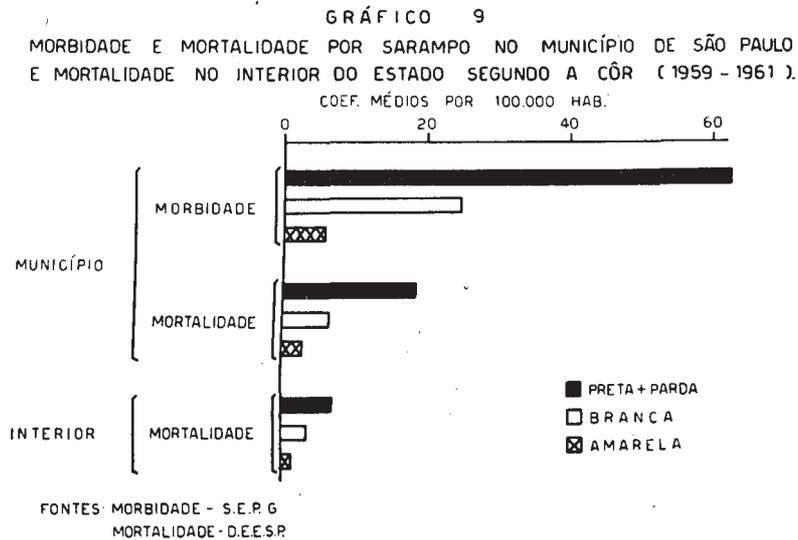
Morbidade e mortalidade por sarampo no Município de São Paulo e mortalidade no Interior do Estado segundo a cor (1959-1961).

Côr	MUNICÍPIO				INTERIOR	
	Morbidade		Mortalidade		Mortalidade	
	Nº de casos (*)	Coef. (***)	Nº de óbitos (**)	Coef. (***)	Nº de óbitos (**)	Coef. (***)
Total	3.114	28,21	844	7,65	1.078	3,90
Preta + parda	706	62,45	210	18,58	231	7,27
Branca	2.396	24,71	628	6,48	835	3,55
Amarela	12	5,76	6	2,88	12	1,28

Fontes: (*) S.E.P.G.

(**) D.E.E.S.P.

(***) Coeficientes médios por 100.000 habitantes, específicos por cor.



doença nos infantes e também nas idades subseqüentes. Por outro lado, dever-se-ia pesquisar a presença de anticorpos de origem materna nas crianças cujas mães tiveram sarampo, a fim de estabelecer com mais precisão a idade em que devem ser vacinadas.

Os dados referentes à incidência segundo a cor, embora muito sujeitos a críticas, sugerem que os pretos e pardos são os mais atingidos, vindo em segundo lugar os brancos e finalmente os amarelos (tabela 17 e gráfico 9). Schmid⁷⁹ resumiu as várias causas de erro que podem influir sobre estes coeficientes, tais como as condições sócio-econômicas e a dificuldade no estabelecimento da cor ou raça dos indivíduos. De qualquer modo, estes fatos sugerem que se deve dar prioridade aos grupos menos evoluídos social e economicamente ao se planejar um programa de vacinação contra a doença.

PARTE II

EVOLUÇÃO HISTÓRICA DOS CONHECIMENTOS SOBRE A NATUREZA ETIOLÓGICA DO SARAMPO E DAS PRIMEIRAS EXPERIMENTAÇÕES SOBRE SUA IMUNIZAÇÃO

O sarampo, doença conhecida desde a mais remota antiguidade, era confundido então com outras doenças exantemáticas, principalmente com a varíola, varicela, escarlatina e rubéola. Foi somente no início do século XVII que a diferenciação clínica entre aquelas entidades foi sendo atingida e, posteriormente, já no século XIX, a descoberta de alguns agentes etiológicos permitiu que fôssem catalogadas como entidades nosológicas bem definidas em

seus aspectos clínicos, etiológicos, imunológicos, epidemiológicos e patológicos. Hoje, sabe-se que alguns vírus ECHO, Coxsackie e Adenovírus são capazes de determinar, igualmente, exantemas morbiliformes.

Embora se admitisse a natureza virótica do sarampo desde 1905 com as experiências de Hektoen³⁰, injetando sangue de sarampentos em voluntários humanos e, posteriormente, em 1911 com a infecção experimental de macacos por Anderson e Goldberger,⁴ foi somente em anos recentes que se conseguiu um meio biológico, mais fácil e eficaz, para o isolamento e propagação do vírus. Assim, de macacos passou-se para o ovo embrionado, em 1930, com a técnica preconizada por Woodruff e Goodpasture, e que, em 1939, com os trabalhos de Rake e Shaeffer,^{67,68} se mostrava ser um bom meio de cultura, além de propiciar os primeiros passos na obtenção de vacinas vivas atenuadas contra o sarampo.

Foi, todavia, com a técnica da cultura de tecidos preconizada por Enders e Peebles¹⁹ em 1954, que se conseguiram as primeiras propagações do vírus do sarampo em células renais humanas com efeito citopatogênico característico (células gigantes multinucleadas e inclusões eosinófilas intranucleares).

Posteriormente outras linhagens de células foram empregadas com sucesso, tais como: células renais de macacos e de cães, células amnióticas (F.L.), células carcinomatosas (HeLa), fibroblastos e outros.

Uma vez descobertos os meios biológicos capazes de permitir uma rápida propagação do vírus do sarampo, lançaram-se os pesquisadores em busca de uma vacina pela atenuação do vírus selvagem em passagens sucessivas por culturas de tecidos e/ou ovos embrionados ou então pela inativação do vírus por substâncias químicas. Estavam abertos, dessa maneira, os caminhos para a concretização de um sonho milenar: a prevenção do sarampo.

Nestes últimos anos, a partir de 1954, os pesquisadores americanos, com Enders à frente, vêm estudando a eficácia de uma vacina com vírus atenuados a partir de uma raça isolada de ser humano (raça Edmonston) adaptada inicialmente em ovo embrionado e, posteriormente, atenuada por passagens sucessivas em células renais humanas e células amnióticas. Em outros países, principalmente na Rússia e Japão, têm sido isoladas raças de vírus com propriedades semelhantes à raça Edmonston e que serviram como ponto de partida para o preparo de vacinas vivas altamente eficientes através de larga comprovação clínica, epidemiológica e sorológica.

Por outro lado, grupos de pesquisadores procuram desenvolver uma vacina inativada que, possuindo boa capacidade antigênica, não se acompanha de reações desagradáveis (febre, exantema, etc) como se verificara com alguma frequência entre os vacinados com a vacina atenuada.

No momento atual defrontam-se dois grupos de pesquisadores: os que preconizam o emprêgo da vacina atenuada e os que preconizam a vacina inativada. Argumentos ponderáveis existem a favor de ambas as facções. Conforme o andamento dessas pesquisas teremos uma decisão sôbre qual a mais aconselhável. A facção da vacina atenuada procura obter uma raça que, altamente atenuada, embora mantendo boa potência antigênica, não determine reações desagradáveis, enquanto o grupo da vacina inativada procura obter vacinas mais concentradas, antigênicamente mais potentes a fim de desfazer a má impressão causada com as primeiras experimentações de vacinação com vírus inativados, em seres humanos. Resultados favoráveis têm sido atingidos por ambos os grupos, mas sômente o largo emprêgo das duas vacinas, em diferentes países, sob diferentes circunstâncias individuais e ambientais, poderá trazer uma resposta definitiva sôbre o palpitante assunto.

PARTE III

SUSCETIBILIDADE DE DIFERENTES CULTURAS DE TECIDO AO VÍRUS DO SARAMPO EFEITO CITOPÁTICO

1. — *Culturas de tecido primárias*: Uma vez que, em geral, é difícil obter-se rins humanos para a preparação de culturas de tecido e que rins de macaco são geralmente contaminados por vírus latentes próprios daquêles animais, o que iria certamente dificultar o isolamento do vírus do sarampo, usa-se hoje, para isolamento do vírus, culturas primárias de células de amnio humano. Essas células são excelentes para o isolamento de vírus a partir do sangue dos pacientes, porém, são menos sensíveis que culturas de células renais humanas para o isolamento de vírus a partir de lavado orofaríngeano.

2. — *Culturas de tecido em série*: Dekking e McCarthy¹⁷ descreveram a adaptação da linhagem Edmonston do vírus do sarampo às células KB, derivadas de linhagem cancerosa. O efeito citopático, contudo, foi tardio e pouco nítido, limitando a aplicação prática dessa adaptação.

Ao mesmo tempo Black e colab. ⁷ adaptaram o vírus em células HeLa e HeP-2. Essa adaptação foi lenta e necessitou de grandes concentrações de vírus nas fases iniciais. O efeito citopático era a principio de difícil observação e a destruição das células era muito limitada. Após a adaptação, o vírus se reproduzia ainda lentamente mas atingia um título ainda não obtido em outras culturas chegando até 10^6 DCT₅₀ por ml. Após essa adaptação, títulos semelhantes foram obtidos em culturas de células renais inoculadas com vírus adaptado.

Enders e Peebles ¹⁹ descreveram a adaptação do vírus às células Detroit-6, derivadas da medula óssea, porém os efeitos citopáticos só eram perceptíveis após a coloração das células das culturas de tecido.

Atualmente a amostra Edmonston está adaptada a muitas culturas de tecido em série, quer humanas (neoplásicas ou não), quer de macaco, e o efeito citopático pode ser mais ou menos intenso numa ou noutra linhagem celular, ou, de acôrdo com as condições, variar mesmo quando se usa um só tipo de cultura de tecido (Moura ⁵⁷).

EFEITO CITOPÁTICO

As lesões celulares induzidas pelo vírus do sarampo são bem diferentes das causadas por outros vírus previamente conhecidos, não somente no aspecto morfológico mas também na variabilidade e no tempo de aparecimento.

As modificações são caracterizadas pelo aparecimento de inclusões citoplasmáticas e intranucleares, formação de sincícios multinucleados e alongamento das células das culturas de tecido.

1. — *Corpúsculos de inclusão*: A formação de corpúsculos de inclusão, apesar de ser fenômeno comum à maioria das culturas de tecido inoculadas com vírus de sarampo, pode não ocorrer. Em certos tecidos, como na linhagem de coração humano de Girardi, não são observados corpúsculos de inclusão e o efeito citopático limita-se ao alongamento das células fusiformes e sua posterior destruição. No entanto, apesar de não apresentar corpúsculos de inclusão, essa linhagem é tão suscetível ao vírus do sarampo quanto outras que evidenciam os referidos corpúsculos. Em algumas culturas de tecido em série somente em uma fase tardia da infecção é que podem ser demonstrados os corpúsculos citoplasmáticos e intranucleares. Em culturas de tecido primárias, tanto humanas quanto de macaco, há o aparecimento mais precoce dessas inclusões.

Quando presentes, as inclusões causadas pelo vírus do sarampo podem ser facilmente distinguíveis das causadas por outros vírus, como as produzidas por adenovírus e pelos vírus do grupo herpes. Os corpúsculos intranucleares induzidos pelo vírus do sarampo são eosinofílicos e Feulgen-negativos através de todo o seu desenvolvimento. Não há marginamento da cromatina com o ressalto do contôrno nuclear. A não ser na área da inclusão, a rede de cromatina do núcleo permanece conservada. Foram observadas variações no aspecto do material de que se compõe os corpúsculos, dependendo do fixador usado, semelhantes àquelas observadas com o vírus herpes B (Reissig ⁷²). Quando as células são fixadas num pH 7,2 a 7,4 em formalina ou tetróxido de ósmio em salina isotônica, o material de inclusão cora-se levemente com co-

rantes ácidos e ocupa tãda a área do núcleo que está livre de cromatina. Quando o fixador contém ácido acético, como os fixadores de Zenker, Carnoy ou Bouin, há retração do material da inclusão e observa-se um halo claro, sem cromatina, ao redor do corpúsculo. Inicialmente as inclusões são muito pequenas, do tamanho de um nucléolo, aparecendo uma ou mais dentro do núcleo. Essas pequenas inclusões aumentam de tamanho, fundem-se e chegam a ocupar todo o núcleo. O nucléolo pode ser visto até os estádios terminais da destruição celular, ocasião em que é empurrado pela inclusão contra a membrana celular, de aparência normal.

As inclusões citoplasmáticas aparecem em massas de diferentes formatos e tamanhos. Fixadas com soluções contendo ácido acético apresentam um halo claro (Figuras 4 a 7).

2. — *Células multinucleadas e células fusiformes*: Independentemente da formação de corpúsculos de inclusão, que podem estar presentes ou não, o efeito citopático do vírus do sarampo pode ainda ser caracterizado quer pela presença de células multinucleadas quer pelo apareciemnto de células fusiformes.

Tem sido relatada grande variação entre as diferentes linhagens de culturas de tecido a respeito do aparecimento de células multinucleadas ou fusiformes após infecção com vírus do sarampo.

Milovanovic e colaboradores ⁵² relataram que, após inocular vírus de sarampo adaptado a células de amnio, tanto em células homólogas quanto em culturas de células de rim humano, obtiveram o mesmo título de vírus mas diferente aspecto citopático. Enquanto que nas culturas de células renais o efeito citopático era caracterizado principalmente pela formação de células multinucleadas, nas culturas de amnio apareciam mais células fusiformes.

Reissig e colaboradores ⁷³ mostraram que fatores externos têm importância no desenvolvimento de um ou de outro tipo de efeito citopático, quando inibiam o aparecimento de células multinucleadas em culturas de linhagem celular HeP-2 infectadas com vírus do sarampo, pelo acréscimo de glutamina ao meio de cultura.

Moura e Warren ⁵⁸ estudaram o aparecimento de células multinucleadas após inoculação da amostra Edmonston do vírus do sarampo em células HeLa adaptadas tanto a sôro de vitelo como a sôro de carneiro e compararam com os achados em células de rim de macaco inoculadas com a mesma amostra de vírus. Notaram uma grande diferença a favor das células adaptadas a sôro de carneiro, com aparecimento mais rápido e mais intenso de células multinucleadas. Em contraposição aos trabalhos de Milovanovic e colaboradores ⁵², notaram que enquanto o título do vírus atingia a $10^{4,5}$ DCT₅₀ por ml para as cé-

lulas adaptadas a sôro de vitelo, subia a $10^{6,5}$ DCT₅₀ por ml para as células adaptadas a sôro de carneiro. Esses autores notaram que as culturas de células HeLa crescem bem melhor em meio contendo sôro de carneiro, formam um lençol de células uniformes, poliédricas e que apresentam muitas figuras de mitose (Figura 1). As células em meio com sôro de vitelo são de forma variada, predominantemente alongadas e não formam um lençol perfeito (Figura 2). Uma vez que a formação de uma célula multinucleada (por alguns autores também chamada de célula gigante ou ainda sincício) não é resultante da divisão atípica do núcleo mas sim da fusão de células preexistentes, o autor relacionou o aparecimento das células mononucleadas com o crescimento mais homogêneo das culturas pela ação do sôro de carneiro.

Com o aparecimento de células multinucleadas, há a formação de estrias e filamentos, que são restos de células preexistentes (Figuras 4, 5 e 6), que em um estágio final, se retraem na massa das células multinucleadas (Figura 7).



Fig. 1 — Células HeLa normais, adaptadas a sôro de carneiro. Cultura de 16 dias. Coloração H.E. Grande aumento. (Microfotografia original de nossa preparação).

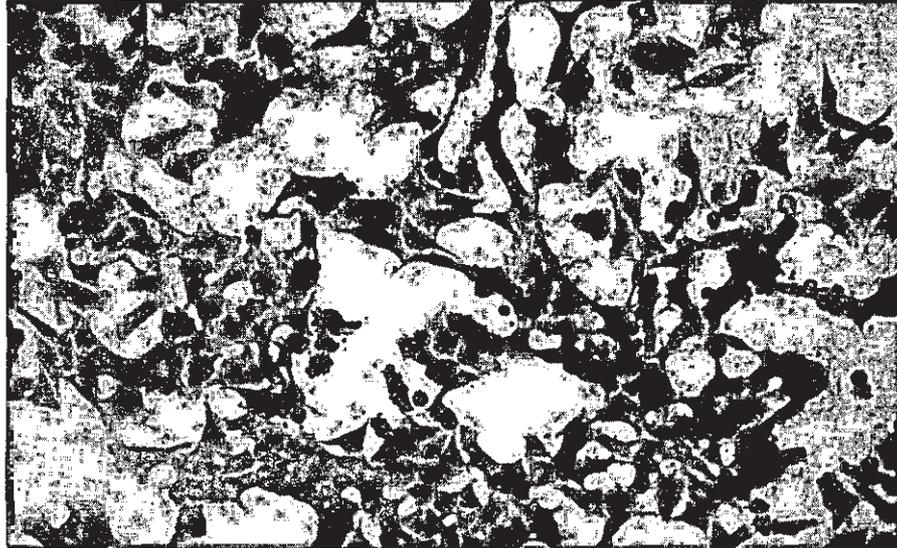


Fig. 2 — Células HeLa normais, adaptadas a sôro de vitelo. Cultura de 16 dias. Coloração H. E. Aumento médio (Microfotografia original de nossa preparação).

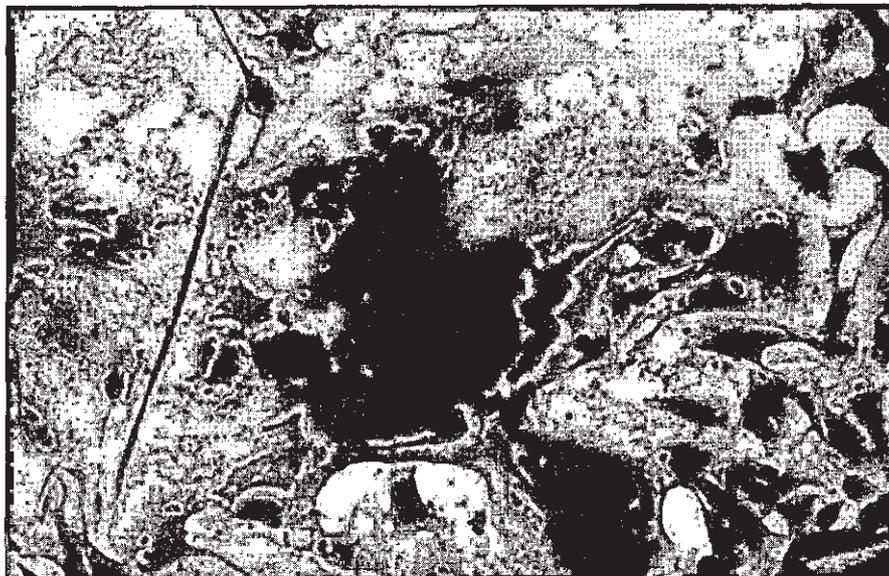


Fig. 3 — Células HeLa adaptadas a sôro de carneiro, 12 dias após serem infectadas com a amostra Edmonston. Notar as numerosas massas sinciciais contendo fusões de células com inclusões eosinófilas intranucleares e citoplasmáticas (Microfotografia original de nossa preparação).

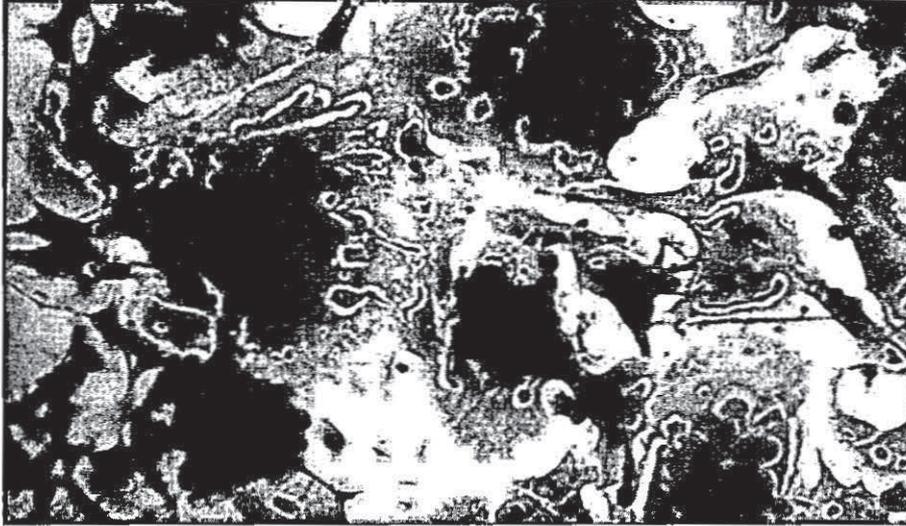


Fig. 4 — Células HeLa adaptadas a sêro de carneiro, 12 dias após serem infectadas com a amostra Edmonston. Observar as massas sinciciais contendo numerosos núcleos com inclusões. Coloração H. E. Aumento médio (Microfotografia original de nossa preparação).

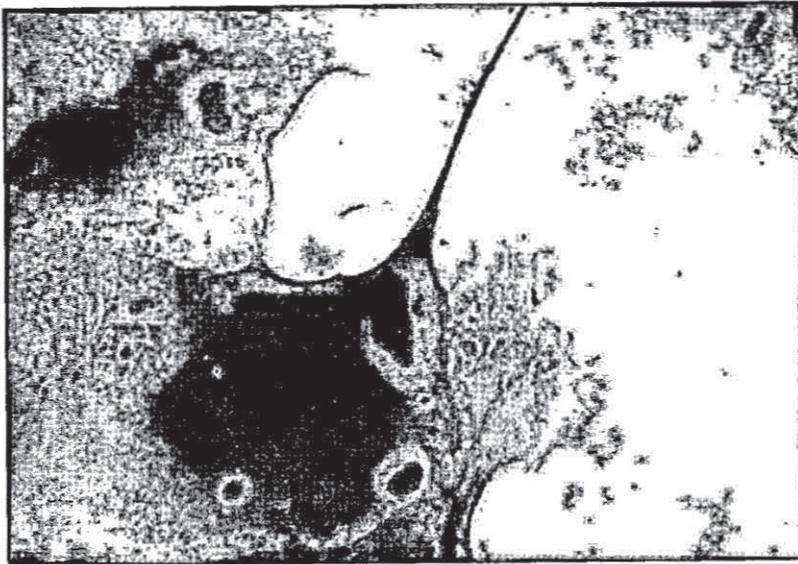


Fig. 5 — Células HeLa adaptadas a sêro de carneiro, 12 dias após serem infectadas com a amostra Edmonston. Notar filamentos de retração citoplasmática e inclusões de várias formas e tamanho no interior de células fundidas em massas sinciciais. Coloração H. E. Aumento médio (Microfotografia original de nossa preparação).

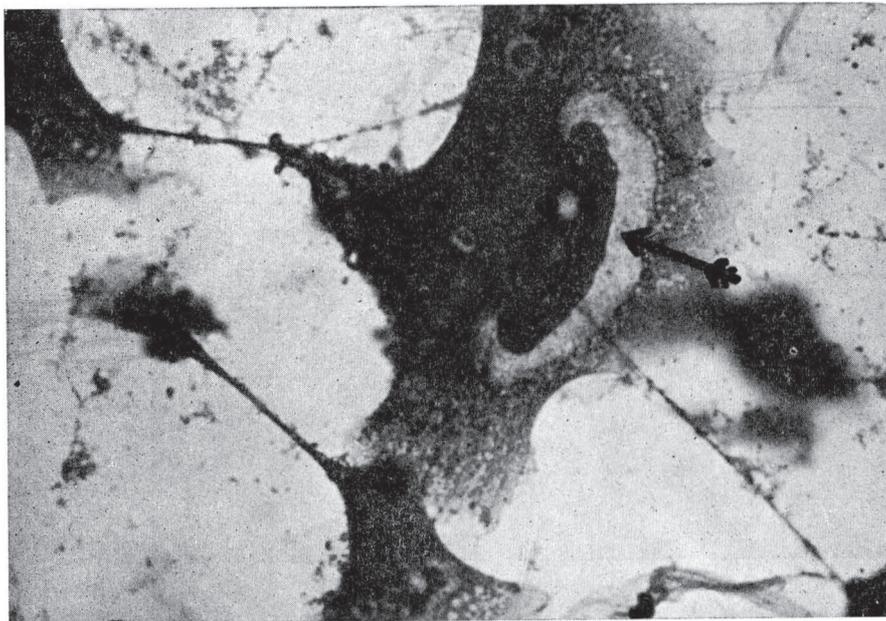


Fig. 6 — Mesmo que na Fig. 5, apenas em fase mais avançada de degeneração celular. Notar no centro do preparado uma grande inclusão eosinófila em forma de banana (flecha) e vários filamentos unindo os restos celulares. Várias inclusões são vistas no interior das massas sinciciais. Coloração H. E. Aumento médio (Microfotografia original de nossa preparação).

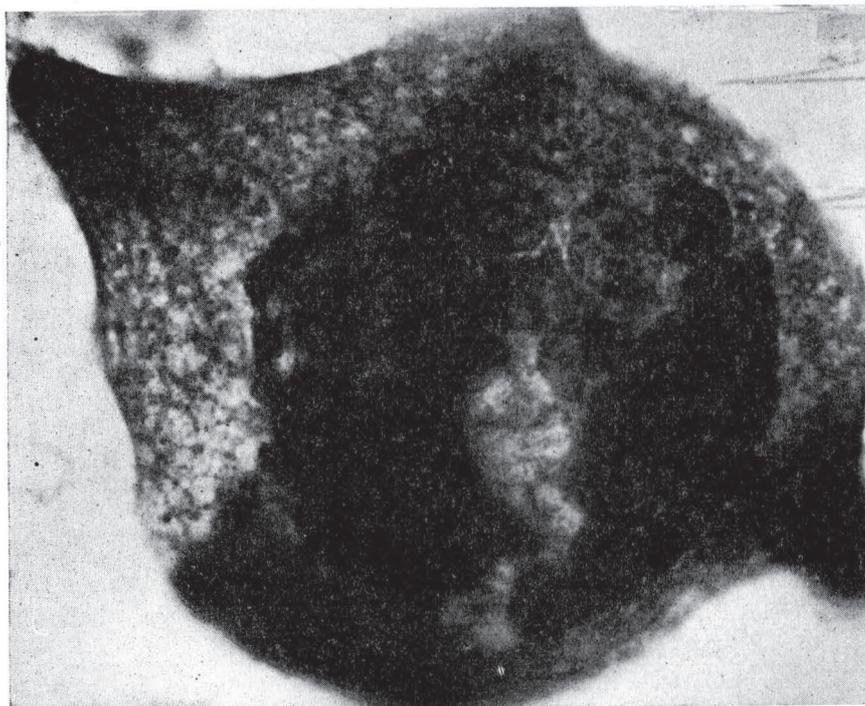


Fig. 7 — Mesmo que na Fig. 6, mostrando em detalhe o estágio final de degeneração da massa sincicial com retração dos filamentos residuais. Coloração H. E. Grande aumento (Microfotografia original de nossa preparação).

PARTE IV

RELAÇÕES ENTRE OS VÍRUS DO SARAMPO, CINOMOSE E PESTE BOVINA

O advento de técnicas simplificadas de culturas de tecido acelerou a investigação de várias infecções humanas e animais, até então desconhecidas. Entre as infecções que mais se tem estudado ultimamente estão o sarampo, a cinomose e a peste bovina.

Surgiu um grande interesse no estudo do sarampo porque o vírus pode ser cultivado em grande escala em laboratório e é agora possível a confecção de vacinas contra esse agente. Foram testadas em laboratório antigas suposições sobre interrelações entre certos vírus e verificou-se a existência de semelhanças entre os vírus do sarampo e o da cinomose e entre ambos e o vírus da peste bovina.

Foram feitas várias experiências, em diferentes laboratórios, no sentido de se saber se esses vírus do homem, cão e boi representam amostras de uma só família, se causam infecção atenuada em hospedeiro heterólogo e se vacinas de vírus heterólogos poderiam proteger contra infecções.

1. *Relações entre sarampo e cinomose* — Bryan⁵ e Nicolle⁵⁹ foram os primeiros a considerar a possibilidade da infecção de homens com o vírus da cinomose. Pinkerton e colaboradores⁶⁴ renovaram essa hipótese, porém, somente nos últimos 8 anos o problema foi estudado experimentalmente. Isso aconteceu após a adaptação do vírus da cinomose primeiro a ovos embrionados, por Haig²⁸, Cabasso e Cox⁹ e, posteriormente a camundongos recém-nascidos, por Morse e colaboradores⁶⁶ e Calström¹¹, além da adaptação do vírus do sarampo a vários sistemas de culturas de tecido.

Os estudos sobre as relações entre os vírus do sarampo e da cinomose estão divididos em três categorias :

a) *Semelhanças entre os efeitos patológicos* — Adams e colaboradores¹² ressaltaram as semelhanças entre os corpúsculos de inclusão e os sincícios encontrados em tecidos infectados com vírus de sarampo e de cinomose. Rockborn⁷⁵ descreveu a formação de sincício em culturas de tecido de rim de cão inoculadas com vírus da cinomose, idênticas às descritas por Enders e Peebles¹⁹ para o vírus do sarampo. A afirmação de Adams e colaboradores de que a cinomose pode ser responsável por infecções respiratórias agudas em crianças deve ser revista, uma vez que já foi conseguido o isolamento de vírus de sarampo de casos de pneumonite de crianças e que até hoje não se isolou vírus de cinomose a partir de material colhido de seres humanos.

b) *Aparecimento de anticorpos no homem* — A maioria de soros humanos de adultos possui a capacidade de neutralizar o vírus da cinomose. Isso

foi demonstrado por Karzon³⁹, ao verificar que sôros de 266 pessoas neutralizavam uma pequena dose de vírus (50DI₅₀), com título médio de 1:40. Apesar da evidência de se tratar de anticorpos verdadeiros, não havia relação entre os títulos e a história de qualquer infecção específica, incluindo sarampo Carlström^{11,12,13}, fazendo reações de neutralização com sistema mais sensível, conseguiu provar aparecimento de anticorpos contra sarampo e cinomose em 16 casos clínicos de sarampo (título de 1:25 para cinomose) e ausência de anticorpos em vários outros pacientes que sofriam de outras infecções. Millian e colaboradores⁵¹ tentaram imunizar crianças com vacina formolizada de cinomose, mas não apareceram anticorpos contra sarampo. Ao mesmo tempo, êsse grupo de autores imunizou 5 crianças com vírus atenuado de sarampo, sendo que 3 delas apresentaram alto nível de anticorpos contra cinomose e duas um título apenas sofrível (1:32) contra sarampo.

c) *Investigações imunológicas em animais* — Adams e colaboradores², Carlström¹², Cabasso e colaboradores¹⁰, Warren e col.⁹⁵ e outros, estudaram as relações entre os vírus de sarampo e da cinomose por técnicas diferentes, utilizando animais diferentes, e porisso é praticamente impossível fazer-se uma comparação direta entre suas conclusões. Assim, para inoculação de vírus de cinomose, usaram ou animais refratários, como o coelho e galinhas, ou animais suscetíveis, como cães e furões. Os antígenos também eram preparados em diversos sistemas e tinham os mais variados títulos. Os testes de neutralização e as provas de fixação de complemento também eram feitos de modo diferente. Enquanto alguns pesquisadores adotam a tese de semelhança entre os vírus do sarampo e o da cinomose, outros limitam essa semelhança a algumas frações do mosaico antigênico desses vírus, à semelhança do que ocorre com o vírus da gripe; outros ainda negam a semelhança entre os dois vírus.

Moura⁵⁷, infectando cães com vírus de sarampo, observou a completa ausência de manifestações clínicas e o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes e fixadores de complemento para êsse vírus e ausência de anticorpos para o vírus da cinomose. Após 77 dias da inoculação inicial com vírus de sarampo, inoculou doses altamente letais de vírus de cinomose e obteve proteção completa de todos os cães previamente imunizados com vírus de sarampo. O achado da presença de alta imunidade contra cinomose e ausência de anticorpos sugere tratar-se de fenômeno de interferência entre sarampo e cinomose. Êsse interessante fenômeno merece, contudo, maiores estudos e só o futuro poderá vir a esclarecer a questão.

2. *Relações entre o sarampo e peste bovina* — A peste bovina é causada por um vírus cultivável em ovos embrionados, coelhos, camundongos e hamsters. Plowright e Ferris^{65e66}, através de técnicas de culturas de tecido, conseguiram

adaptar o vírus da peste bovina em culturas de tecido de rim bovino e em seguida a outros tipos de culturas de tecido.

As alterações causadas nas culturas de tecido são semelhantes às produzidas pelo vírus do sarampo, apresentando quer células multinucleadas, quer corpúsculos de inclusão eosinofílicos.

A peste bovina é grandemente estudada na África Ocidental, por Plowright e Ferris, de quem temos os seguintes dados:

a) Anticorpos neutralizantes de peste bovina não puderam ser demonstrados em dois indivíduos apenas que trabalhavam nos seus laboratórios, sendo que ambos eram os únicos a não ter passado de sarampo.

b) Numa epidemia de sarampo em 17 crianças, 9 adquiriram, na convalescença, anticorpos contra peste bovina, 4 tinham anticorpos já na fase aguda (sangue colhido somente 5 dias após o início dos sintomas) e 2 permaneceram negativos após 5 semanas. As duas crianças restantes apresentaram grande aumento no título para sarampo, sem alteração significativa do título para peste bovina.

Durante os últimos anos, os pesquisadores da África observaram que a cinomose é rara nos cães que vivem em área endêmica de peste bovina, sugerindo esse fato conexão entre os vírus. Goret²⁷ protegeu completamente contra cinomose furões inoculados previamente com vírus não atenuados de peste bovina e obteve resultados idênticos protegendo gado previamente inoculado com vírus de cinomose não atenuado.

As relações entre os dois vírus estão sendo estudadas intensamente nestes últimos anos, especialmente empregando métodos mais recentes como o da precipitação em agar. Por esse método, sabemos que apesar do soro da peste bovina reagir melhor com antígeno homólogo, reage bem também com o vírus da cinomose.

Todos esses estudos não são apenas de importância acadêmica, uma vez que poderão resultar no uso de vacinas heterólogas, feitas com vírus perfeitamente inócuos para a espécie animal que queremos proteger.

As propriedades físicas, tanto dos vírus do sarampo quanto da cinomose e da peste bovina, se assemelham, e seria altamente desejável que houvesse um sistema para que esses três vírus fossem comparáveis diretamente.

As respostas antigênicas até hoje conhecidas são baseadas em amostras isoladas há tempo, que se adaptaram ao manuseio constante dos laboratórios, e pode ser que no futuro venha-se a isolar amostras virulentas dos três vírus que permitam estudos antigênicos mais conclusivos.

PARTE V

PROVAS IMUNOLÓGICAS UTILIZADAS NO ESTUDO DO SARAMPO

No estudo da imunologia do sarampo têm sido usadas as reações de neutralização, fixação do complemento e inibição da hemaglutinação. Os autores concordam em que a melhor destas provas é a reação de neutralização, por ser a mais sensível e dar maior reprodutibilidade de títulos. A reação de fixação do complemento, com os antígenos obtidos até agora, tem se mostrado inadequada, por ser pouco sensível. A reação de inibição da hemaglutinação parece ser muito promissora, pois, sendo de fácil execução, tem dado resultados comparáveis aos da neutralização. Entretanto, é necessário que seja acumulada maior experiência nos diversos laboratórios, antes que se possa utilizar, na rotina, só a reação de inibição da hemaglutinação, sem o controle da reação de neutralização (Stokes e col.⁸⁸; Carter e col.¹⁴; Cutchins¹⁶; Meyer e col.⁵⁰).

A reação de imunofluorescência não foi usada em rotina, pois é de execução difícil.

O vírus do sarampo produz o fenômeno da hemadsorção, mas em pequeno grau; talvez por esta razão a reação de inibição da hemadsorção não tenha sido estudada.

Reação de Neutralização: Enders e Peebles¹⁹ descreveram a reação de neutralização em cultura de tecido para o sarampo. É a reação básica para estudos da imunologia do sarampo e tem sido usada amplamente pelos diversos pesquisadores, com certas diferenças nas minúcias técnicas.

Meyer e col.⁵⁰ estudaram diversas variáveis da reação de neutralização concluindo que: a) a dose de vírus usada deverá ser 100 DCT 50%, podendo variar de 50 a 500 DCT 50% sem produzir alterações significativas nos títulos dos sôros e conservando sensibilidade razoável. Dão grande importância ao fato de que as dosagens dos vírus padrões sejam observadas pelo menos durante 14 dias. A observação durante menor tempo (em geral 6 dias) não revela a quantidade total de vírus, fazendo com que se use vírus em excesso na reação, resultando, no final, títulos menores para os soros; b) o tempo e a incubação das misturas "soros + vírus", para fins de rotina, deverá ser de 1 hora a 4°C. As experiências demonstraram que os títulos máximos dos soros foram obtidos com incubação nas temperaturas de 4°C e 25°C, durante 1 hora; c) preconizam o uso de "soro padrão de referência" para se obter maior precisão na reação. Outros autores usam como controles sôros positivos e negativos, em cada reação.

Os mais diversos tipos de células mantidas em cultura contínua têm sido usados para dosagem dos anticorpos neutralizantes contra sarampo, como por

exemplo células amnióticas humanas, células HeLa, células de coração de macaco de Salk, e outras.

A maior parte dos autores tem usado sôros inativados, se bem que alguns os tenham utilizado sem inativar.

Descreveremos a técnica por nós usada a propósito da vacinação com vírus atenuados.

Reação de fixação do complemento: Enders e Peebles¹⁹ demonstraram que os fluidos das culturas celulares do vírus do sarampo continham antígeno fixador do complemento. Esta tem sido a fonte rotineira deste antígeno. Os antígenos assim obtidos são de baixa potência. Quando usados crus, sem concentrar, dão títulos de 1:4, de maneira que nos trabalhos mais recentes têm sido concentrados 10 vezes por ultracentrifugação. O tipo de célula usada para cultivo do vírus não influi no preparo do antígeno (Meyer e col.⁵⁰).

As técnicas usadas para a reação de fixação do complemento variam nos diversos trabalhos, mas a usada pela maior parte dos pesquisadores foi a técnica de gotas, em placas, de Fulton e Dumbell²³.

Reação de inibição da hemaglutinação: Nossa experiência. A verificação de Peries e Chany⁶³, em 1960, de que o vírus do sarampo aglutina hemácias de macaco, tornou possível o emprêgo da técnica de inibição da hemaglutinação para a pesquisa e titulação dos anticorpos do sarampo. Rosen⁷⁸, em 1961, utilizou para esse fim hemácias de macaco rhesus (*Macaca mulatta*) e, como antígeno, uma suspensão concentrada de vírus do sarampo, amostra Edmonston, cultivada em células KB. Obteve resultados pelo menos tão sensíveis e específicos quanto os da reação de fixação do complemento, com as nítidas vantagens da eliminação das dificuldades oriundas de anticomplementaridade e da necessidade de padronização prévia dos antígenos contra sôros padrões. Rosanoff⁷⁶, em 1961, encontrou variação na atividade hemaglutinante do vírus quando cultivado em diferentes linhagens de células. Os antígenos eram mais ativos quando obtidos em células de rim de "baboon" (*Papio*) do que quando cultivados em células de rim de macaco rhesus ou cynomolgus ou em células de amnio humano. Eram mesmo totalmente inativos quando obtidos em células de embrião de galinha. Testados contra hemácias de diferentes espécies de primatas, os seus antígenos mostravam títulos uniformes. Cutchins¹⁶, em 1962, entretanto, verificou acentuada variação da atividade hemaglutinante do vírus do sarampo segundo as hemácias usadas. Antígenos inativos ou de baixo poder aglutinante sobre hemácias de macacos rhesus mostravam altos títulos contra hemácias de macacos "vervet" (*Cercopithecus*). As variações ocorriam não somente entre diferentes espécies mas também entre diferentes indivíduos da mesma espécie. Pesquisando anticorpos anti-sa-

rampo nos sôros dos macacos, encontrou altos títulos naquêles cujas hemácias eram menos aglutináveis. Cutchins também comparou as reações de inibição da hemaglutinação, de neutralização e de fixação do complemento, concluindo pela alta concordância entre as duas primeiras. Recomenda o emprêgo amplo da reação de inibição da hemaglutinação em vista da segurança dos resultados e da facilidade de execução. Acresce que o antígeno é de fácil obtenção e manutenção e as hemácias conservam-se por bastante tempo em geladeira; em Alsever. Resultados igualmente animadores foram obtidos por Carter e col.¹⁴ em 1962, em estudo sôbre a resposta sorológica em crianças vacinadas com vírus do sarampo inativado. Observaram concordância das reações de inibição de hemaglutinação e de neutralização, ambas nitidamente superiores à reação de fixação do complemento.

Em nossas titulagens empregamos técnica semelhante à de Rosen⁷⁸, apenas reduzindo os volumes dos vários elementos. Em lugar de tubos de 12 x 75 empregamos microplacas de plexiglas, providas de receptáculos de 0,2 ml de capacidade e de fundos afunilados. Os volumes de sôro, antígeno e suspensão de hemácias foram reduzidos dos 0,2 ml da técnica em tubos para sômente 0,02 ml e distribuídos em gôtas, por meio de pipetas adaptadas a agulhas padronizadas para fornecer 50 gôtas por ml. Titulagens de antígenos e reações de inibição de hemaglutinação feitas pela técnica original em tubos e pela micro-técnica deram resultados idênticos.

Damos a seguir os detalhes da técnica:

a) Padronização das hemácias: o sangue, colhido da veia femural, foi conservado em geladeira, em solução de Alsever. Para uso, lavava-se três vêzes e suspendia-se a mais ou menos 10% em salina. A partir dessa suspensão fazia-se uma série de diluições entre 0,5 e 1,5%, que eram distribuídas na placa de plexiglas, no volume de 0,02 ml (uma gôta). Sedimentadas as hemácias, escolhia-se a maior diluição dando botão nítido de hemácias no fundo do receptáculo, em geral próxima a 1,0%. Como a suspensão inicial era padronizada por leitura em espectrofotômetro (lisada a 1/20 com água destilada, lida contra água em 545 ujm), era fácil reproduzir-se suspensões de hemácias de mesma concentração.

b) Preparo dos soros: os soros eram préviamente absorvidos com kaolin e com hemácias de macaco, como descrito por Rosen⁷⁷: os soros eram diluídos a 1/5 com salina a 0,85% e a um volume de sôro diluído juntava-se um volume de kaolin ácido-lavado, a 25% em salina (25 g de kaolin em 100 ml de solução salina). Após agitação, a mistura era mantida em temperatura ambiente por 20 minutos e então centrifugada. A 1,0 ml do sobrenadante (sôro diluído a 1/10), juntava-se 0,1 ml de papa de hamácias de macaco rhesus e mantinha-se a mistura a 4° C por uma hora e centrifugava-se.

c) Preparo e titulação do antígeno: cultura do vírus — Foi usada amostra atenuada Edmonston, cultivada em garrafas de células amnióticas humanas (AV 3). O vírus era colhido depois do aparecimento de efeito citopático de intensidade máxima, após 4 a 6 dias de cultivo. O fluido nutriente era repetidamente congelado e degelado, centrifugado a cerca de 1500 rpm por 20 minutos. Desprezava-se o sedimento e o sobrenadante, adicionado de gelatina para a concentração final de 0,06% era submetido a ultracentrifugação por 90 minutos a 30.000 rpm em rotor 30 de centrífuga Spinco modelo L. O sedimento era resuspenso em 1/10 do volume do sobrenadante. O antígeno assim obtido era conservado a — 70° C e ocasionalmente — a 20° C até ser usado.

Titulação do antígeno: Duas gotas (0,04 ml) das diluições crescentes do antígeno, de razão 2 a partir de 1/8 preparadas em tubos, eram distribuídas nos receptáculos da microplaca. Juntava-se uma gota (0,02 ml) da suspensão de hemácias em diluição ótima. Após incubação a 37° C por prazo suficiente para a obtenção de contraste nítido entre aglutinação e não aglutinação (uma a três horas, em geral), observava-se a maior diluição de antígeno capaz de dar aglutinação evidente. Esta diluição era considerada como tendo uma unidade hemaglutinante.

Titulação dos soros: Usava-se uma diluição de antígeno contendo quatro unidades hemaglutinantes em 0,02 ml. As diluições dos soros na razão 2 a partir de 1/10 eram feitas em tubos e pipetadas nas microplacas. Juntava-se a cada, uma gota de antígeno, agitava-se para misturar e deixava-se uma hora à temperatura ambiente. Depois juntava-se uma gota de hemácias e agitava-se. A leitura era feita após incubação a 37° C em câmara úmida por período suficiente para leitura nítida dos testemunhos. Em geral duas a três horas eram suficientes, mas por vezes os resultados eram mais nítidos após nova agitação e incubação até o dia seguinte.

Tomava-se como título do soro a maior diluição capaz de inibir a atividade hemaglutinante do antígeno.

Resultados: Duas pequenas partidas de antígeno preparadas previamente deram títulos 1/64 e 1/128, respectivamente. Duas partidas preparadas com maiores volumes deram títulos de 1/8, repetidamente obtidos com hemácias de diferentes macacos. Usamos somente hemácias de macacos *rhesus*, gentilmente cedidas pelo Dr. Vallejo Freire, do Instituto Butantã de São Paulo.

Observamos boa reprodutibilidade de títulos, em sucessivas determinações de mesmos soros, com diferentes partidas de hemácias. Em geral havia

concordância de títulos ou variação de apenas uma diluição. A tabela 18, anexa, mostra titulações em duplicata em vinte soros realizadas com diferentes antígenos e hemácias. É de se notar a concordância absoluta entre positividade e negatividade. A correlação entre os resultados da inibição da hemaglutinação e da neutralização são também bastante bons, como mostra a tabela 19.

Os nossos resultados, embora tenhamos trabalhado ainda com reduzido número de soros, concorda com o dos autores citados.

Tabela 18

TITULAGENS EM DUPLICATA EM VINTE SOROS

soros n.º	1.ª titulação	2.ª titulação
82	< 1/10	< 1/10
84	1/80	1/80
85	1/20	1/40
86	< 1/10	< 1/10
88	1/80	1/40
94	< 1/10	< 1/10
106	< 1/10	< 1/10
104	< 1/10	< 1/10
110	1/40	1/20
118	< 1/10	< 1/10
112	< 1/10	< 1/10
117	1/20	1/40
122	< 1/10	< 1/10
121	1/20	1/20
131	< 1/10	< 1/10
132	< 1/10	1/10
138	1/320	1/160
154	1/80	1/80
155	1/10	1/20
149	1/40	1/40

TABELA 19
Resultados de inibição de hemaglutinação (I.H.) e neutralização (N)*

soros n.º	I. H.	N
86	neg.	neg.
84	80	32
88	80	> 128
91	160	> 128
94	neg.	neg.
100	40	32
103	neg.	neg.
105	320	256
106	neg.	neg.
83	80	16
104	neg.	neg.
110	40	32
119	neg.	neg.
118	neg.	neg.
117	40	128
122	neg.	neg.
124	> 320	256
127	320	> 1024
137	10	8
135	160	32
121	20	128
131	neg.	neg.
132	neg.	neg.
138	80	128
129	10	8
139	10	8
146	40	20
150	40	64
153	40	64
157	40	16
154	80	16
155	20	64
149	40	> 128
160	neg.	neg.
161	neg.	neg.

* Os títulos estão expressos pelas recíprocas das diluições.
Os valores tabulados como negativos correspondem a títulos < 1/10 para a I. H. e < 1/4 para a N.

Interpretação do valor dos títulos nas reações sorológicas para o sarampo:

Os pesquisadores concordam em que baixos títulos de anticorpos neutralizantes para o vírus do sarampo já indicam imunidade segura contra esta doença. Para Hilleman e col.³¹, mesmo o título de 1:1 significa resistência contra o sarampo. Por outro lado, admitem até que raras crianças tenham anticorpos maternos em nível tão baixo que não são revelados pela reação de neutralização, mas são suficientes para impedir a ação do vírus atenuado da vacina e, mesmo, a do vírus virulento das epidemias.

Katz e col.⁴² aceitam a mesma possibilidade, acrescentando ainda que os anticorpos fornecidos pela injeção profilática de gamaglobulina devam exercer a mesma ação. Acrescentam também que, pessoas com agamaglobulinemia, tendo sarampo, tornam-se imunes e nunca apresentam anticorpos neutralizantes.

Entretanto, Hilleman e col.³², usando vacina com vírus mortos, provocaram o aparecimento de anticorpos neutralizantes em títulos de 1:1 e 1:2, que não demonstraram o menor poder protetor contra a doença natural.

Já os anticorpos fixadores do complemento não têm a mesma significação em virtude da baixa sensibilidade da reação. Isto é, ausência de título na reação de fixação do complemento não indica suscetibilidade ao sarampo. A maior parte dos autores concordam em que títulos de 1:4 ou 1:5 já indicam resistência contra esta doença (Cutchins¹⁶ e Hilleman e col.³¹).

Nas reações de inibição da hemaglutinação o título de 1:10 é considerado positivo, indicando imunidade ao sarampo (Cutchins¹⁶).

PARTE VI

VACINAS ATENUADAS. (VÍRUS VIVOS). INQUÉRITOS CLÍNICO-SOROLÓGICOS. NOSSA EXPERIÊNCIA

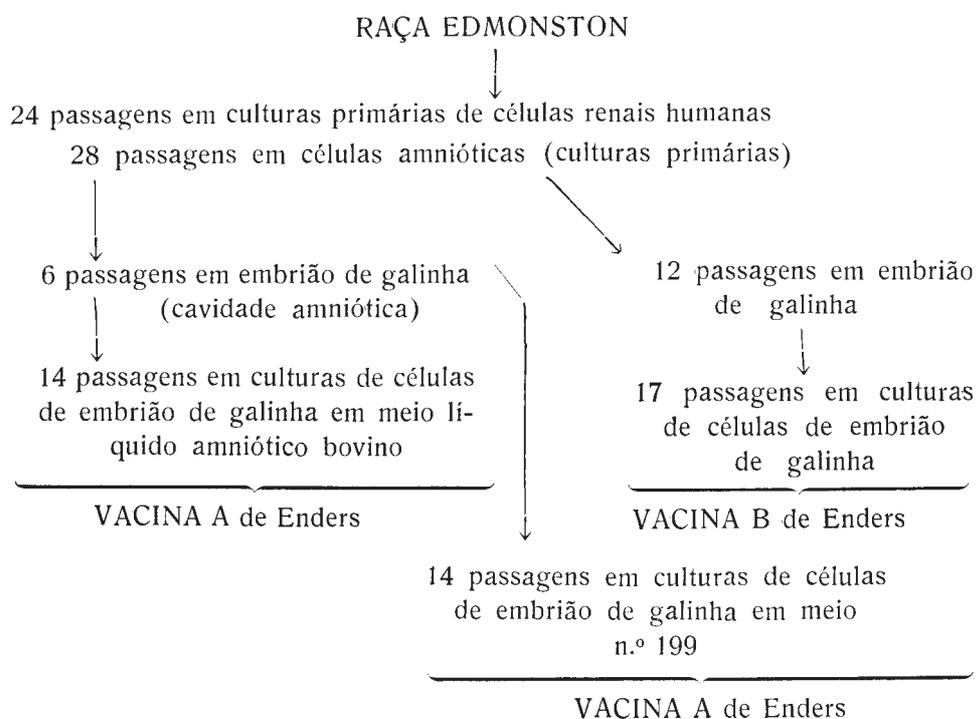
CONSIDERAÇÕES GERAIS

As vacinas contra o sarampo se fundamentam na propriedade antigênica do vírus, o qual, introduzido no organismo suscetível, é capaz de se multiplicar e determinar a produção de anticorpos em níveis suficientes para neutralizar especificamente êsses mesmos vírus, não permitindo, na reinoculação, a sua multiplicação e propagação.

Para se conseguir êsse objetivo era necessário isolar o vírus "selvagem" do sarampo, de preferência o vírus de origem humana, e posteriormente atenuá-lo ou inativá-lo de modo a, conservando-lhe as propriedades antigênicas específicas, retirar-lhe a virulência natural responsável pelas reações indesejáveis que determina no organismo animal.

Embora, como já dissemos, o vírus do sarampo tivesse sido isolado em várias ocasiões desde 1930, não foi senão há poucos anos que se conseguiu um meio biológico fácil de isolá-lo, identificá-lo, mantê-lo e propagá-lo em série. Assim, em 1954, Enders e Peebles¹⁹, inoculando em culturas de células renais, humana e de macaco, secreções e sangue de um indivíduo no 1.º dia de exantema sarampento, isolaram uma raça de vírus que foi denominada Edmonston. Essa raça foi posteriormente atenuada por Enders e col.²⁰ através de passagens seriadas em culturas renais humanas, amnióticas e embrião de galinha.

A seqüência sumária do proceso de atenuação empregado por Enders e col.²⁰ foi a seguinte :



Através dessas passagens sucessivas em culturas de tecidos conseguiram Enders e col.²⁰ uma raça avianizada do vírus do sarampo e que se diferenciava da raça original ("selvagem") pelas seguintes propriedades:

- 1) Capacidade de se multiplicar e produzir efeito citopatogênico em sistemas celulares de embrião de galinha.
- 2) Incapacidade de produzir manifestações evidentes de doença ou viremia persistente e reconhecível em macacos suscetíveis.
- 3) Incapacidade de se multiplicar apreciavelmente no sistema nervoso central de macacos ou se localizar no trato superior do aparelho respiratório após inoculação intracerebral. Nos macacos inoculados subcutaneamente não foi possível recuperar o vírus no faringe nem no líquido cefalorraquidiano.

Tendo demonstrado, em macacos, que o vírus avianizado havia sofrido evidente atenuação e que as infecções inaparentes produzidas pelo vírus atenuado eram acompanhadas de anticorpos neutralizantes e fixadores de complemento (surgimento entre o 14º e 21º dias) passaram Enders e col.²⁰ a testar a eficácia e as reações da vacina em seres humanos suscetíveis.

Em vista da ocorrência de reações febris freqüentes após a vacinação, os pesquisadores citados submeteram o vírus a posteriores passagens em em-

brião de galinha e culturas de células de embrião a fim de atenuá-lo mais (vacina B de Enders).

Cêrca de 400 crianças receberam quer a vacina A quer a vacina B de Enders, administrada pela via subcutânea. As reações clínicas foram discretas e consistiram essencialmente em febre e exantema em graus variados. A incapacidade funcional foi mínima ou então ausente completamente. Em 96% das crianças suscetíveis a vacina foi capaz de determinar o aparecimento de anticorpos neutralizantes ou fixadores de complemento.

Posteriormente, Zhdanov e Fadeeva ⁹⁷ experimentaram 3 vacinas diferentes, preparadas a partir da raça Edmonston em culturas de células amnióticas humanas, as quais foram inoculadas por três diferentes vias: conjuntival, nasal e subcutânea. Embora essas vacinas produzissem reações clínicas discretas, não foi comprovado o efeito protetor mesmo quando foram empregadas 3 doses sucessivas. Ficou assim demonstrado que a adaptação da raça Edmonston em passagens seriadas em culturas de células amnióticas acarretava a perda de antigenicidade do vírus.

Em 1960, Hoekenga e col.³³ experimentaram no Panamá a vacina A de Enders a qual eles submeteram a 3 passagens adicionais em culturas de embrião de galinha. As reações clínicas foram mínimas e um alto grau de proteção foi conseguido.

Também no ano de 1960 Dolgin e col. ¹⁸ relataram os resultados de suas experimentações clínicas e sorológicas em crianças suscetíveis vacinadas com 2 tipos de vacinas derivadas da vacina A de Enders. Uma delas foi produzida através de duas passagens da vacina A de Enders em cultura de células de pulmão de embrião de galinha e 5 passagens em embrião de galinha (foi empregada uma suspensão de membrana amniótica infectada). A outra vacina foi obtida pela passagem da vacina A de Enders em 3 passagens consecutivas em células de embrião de galinha, uma passagem em células de rim de macaco e uma passagem final em células de embrião de galinha. As reações e antigenicidade dessas duas vacinas foram semelhantes às obtidas por Enders e col. com a sua vacina A.

Em 1961, Kress e col. ⁴⁴ prepararam uma vacina a partir da raça Edmonston que sofreu várias passagens em culturas de célula de embrião de galinha. Os resultados obtidos foram semelhantes aos obtidos por Enders com sua vacina A.

Face a algumas reações indesejáveis obtidas com algumas vacinas atenuadas, pesquisou-se o efeito da gamaglobulina na atenuação ou abolição dessas reações. Assim, em 1961, Mc Crumb e col. ⁴⁸ estudaram o efeito da vacina associada à gamaglobulina e referiram boa resposta antigênica com atenuação dos sintomas desagradáveis.

Em 1961, Stokes e col.⁸⁶ verificaram as vantagens do emprêgo da gama-globulina como atenuadora da febre e exantema, sem interferir na capacidade antigênica do vírus.

Resultados semelhantes foram referidos por Katz e col.⁴² e Mc Crumb e col.⁴⁸. Estes últimos empregaram uma vacina preparada a partir da raça Edmonston e atenuada por passagens em células renais caninas. As reações clínicas com essa vacina foram bem mais intensas que as observadas com a vacina A de Enders.

Em 1960, Smorodintsev e col.⁸⁴ isolaram em cultura de células renais humanas uma raça humana de vírus do sarampo e que foi denominada Leningrado 4 F.

A raça Leningrado 4 F foi submetida a 26 passagens em células renais humanas, 35 passagens em culturas primárias de células amnióticas humanas e 15 passagens em culturas de células de embrião de galinha para, ao final, ser empregada como vacina. Uma primeira experiência foi conduzida em 113 crianças russas (suscetíveis) tendo sido empregada a via intracutânea (0,1ml), a subcutânea (0,25-0,50 ml), a aérea (vaporização no nasofaringe) e a epicutânea. Sòmente as vias intracutânea e subcutânea revelaram-se eficientes. O vírus pôde ser recuperado do sangue e aparelho respiratório de algumas crianças (as que desenvolveram sintomatologia mais intensa). Os resultados clínicos e sorológicos obtidos com a raça Leningrado 4 F foram superponíveis aos comunicados por Enders e colab.²⁰.

Em 1959, Toyoshima e col.⁹⁰ isolaram no Japão uma raça de vírus de sarampo em células amnióticas humanas (células F.L.), que se comportou imunologicamente e citopatogênicamente como a raça Edmonston de Enders.

A raça Toyoshima cresce também em outras linhagens de células de origem humana, tais como células HeLa, células hepáticas e conjuntivais, assim como nas cavidades corioalantóide e amniótica do ovo embrionado.

A preparação da "vacina Toyoshima" obedeceu sumariamente à seguinte seqüência de atenuação: 26 passagens em cavidade amniótica, centrifugação a 3.000 r.p.m. das membranas amnióticas e alantóicas infectadas e duas a 3 passagens finais do sobrenadante do centrifugado em cavidade corioalantóide de ovos embrionados de 7 dias.

A "vacina Toyoshima" foi testada em uma vila isolada do Japão assim como em um grupo de prédios de apartamentos da cidade. Foram escolhidas crianças entre 6 meses e 12 anos de idade e que não haviam tido sarampo à anamnese. A introdução da vacina foi feita por inalação (nebulização da suspensão com vírus) sendo nebulizada 0,1 ml de suspensão por minuto. O tempo de exposição ao vírus nebulizado variou entre 20 e 120 segundos.

O número de crianças que recebeu a “vacina Toyoshima”, nessa experimentação, foi de 937. Surpreendentemente, 80 das 166 crianças que tiveram testes sorológicos antes da vacinação, já tinham anticorpos para sarampo em seu sangue, um fato que verificamos também em crianças de São Paulo, quando 53% de um grupo de crianças que não revelaram história anterior de sarampo já possuíam anticorpos em títulos maiores que 1:4.

As conversões sorológicas com essa vacina foram, nessa experimentação, em número diminuto: 8 entre 58 das que receberam a vacina EC2 e EC2-Toyoshima e 5 entre 9 crianças que receberam a vacina EC2-Toyoshima. Nenhuma das crianças apresentou sintomas clínicos de sarampo.

Posteriormente a “vacina Toyoshima” foi modificada em seu processo de atenuação, fazendo-se 26 passagens em cavidade amniótica e 6 em cavidade corioalantóide. Esta nova vacina foi experimentada em 22 crianças entre 7 meses e 4 anos e 9 meses de idade. Após 6 a 11 dias, 20 crianças apresentaram febre (37,5 a 40°C) por 1 a 6 dias. Oito crianças apresentaram discreto exantema. Nenhuma apresentou sintomas catarrais ou manchas de Koplik. Foram realizados testes sorológicos (neutralização e fixação de complemento) em 7 pares de soros e observou-se elevação do título em todos eles. Não foram observados casos de vacinação por contato e duas tentativas de isolamento do vírus em lavados de garganta foram negativas.

Em 1960, Okuno e col. ⁶¹, no Japão, descreveram os resultados obtidos com uma vacina preparada a partir da raça Toyoshima e que foi denominada “vacina Biken”. A preparação da vacina foi a seguinte: a raça Toyoshima descrita anteriormente foi inoculada na cavidade corioalantóide de ovos embrionados de 7 dias e incubados durante 7 dias. A membrana corioalantóide e fluidos foram separados, homogenizados e centrifugados. O sobrenadante foi reinoculado em cavidade corioalantóide de ovo embrionado de 7 dias. Após 7 dias colheu-se o material como na operação descrita inicialmente e reinoculou-se em cavidade corioalantóide. Uma 3.^a passagem era realizada de maneira semelhante e após 7 dias o material colhido forneceu a “vacina Biken”. Estudos clínicos e sorológicos foram realizados com a vacina EC₁ (após uma passagem em cavidade corioalantóide), EC₂ e EC₃ (respectivamente após 2 e 3 passagens).

Dezenove crianças foram vacinadas por via nasal com 0,5ml de vacina EC₁. Cerca de uma semana após a inoculação, 6 crianças apresentaram febre de 37 a 39° C seguida de ligeiro exantema na face, mas sem fenômenos catarrais. Treze crianças permaneceram assintomáticas. Após 30 dias foi realizado o teste sorológico, que revelou conversão em 8 crianças.

Outro grupo de 14 crianças recebeu por via nasal a vacina EC₂ (6 crianças) e EC₃ (8 crianças). Todas elas permaneceram assintomáticas no período de observação de 1 mês, e uma conversão sorológica foi observada em 30%

das crianças em ambos os grupos. Por ocasião de um surto epidêmico ocorrido 1 mês após a vacinação na instituição onde se realizou o estudo, constatou-se que 6 dos 14 vacinados foram acometidos de sarampo, enquanto os 8 restantes não contraíram a moléstia a despeito do íntimo contato com os sarampentos. Atribuiu-se a ineficácia parcial da vacina à via de introdução (nasal) usada, fato que Veronesi e col.⁹³ também constataram em São Paulo quando empregaram a via aérea para introdução da vacina.

Posteriormente, Okuno ⁶⁰ comunicou que os insucessos com a via nasal eram devidos às doses empregadas e que quando empregou no mínimo 10 doses infecciosas (TCID₅₀) por indivíduo, praticamente 100% dos vacinados eram imunizados pelo método de inalação. Também notou que a intensidade dos sintomas clínicos, quando apareciam, eram independentes das doses variadas que empregara e que todos os que apresentaram reações clínicas tiveram conversão sorológica em títulos tão altos quanto os verificados com a infecção natural.

A vacina atenuada que empregamos nos foi fornecida para experimentação pela American Cyanamid Company, através da sua Divisão Internacional de pesquisas. Essa vacina foi preparada a partir da 13.^a passagem em cultura de tecido de embrião de galinha da raça Edmonston e que foi fornecida ao laboratório pelo Dr. Enders. A raça Edmonston fornecida por Enders foi submetida nos Laboratórios da Cyanamid às seguintes passagens atenuadoras: 3 passagens em cultura de tecido de embrião de galinha, uma passagem em cultura de tecido de rim de macaco e uma passagem final em cultura de tecido de embrião de galinha. A vacina assim obtida foi denominada de vacina n.º 2. O produto foi liofilizado e submetido a rigorosos testes de esterilidade não só para bactérias e fungos como para certos vírus, como o vírus B do herpes, o vírus Coxsackie e o vírus da meningite coriolinfocitária. Testes de segurança e potência foram realizados com cada partida da vacina. Os títulos da vacina variavam originariamente entre 1.000 e 1.000.000 T.C.I.D.₅₀/ml (50% de doses infectantes para cultura de tecidos). Os títulos da vacina obtidos após cerca de 1 ano de liofilização (conservada em geladeira comum) foram: 10^{4,5} em células HeLa e 10^{3,5}, 10^{3,7} e 10^{3,5} em células de rim de macaco.

Após cerca de 2 anos retestamos a a potência da mesma vacina (conservada em geladeira comum) e, embora tivesse perdido potência, ainda mantinha o título de 10^{1,5} em células HeLa.

VIAS DE INOCULAÇÃO — DOSES — INTERVALOS — IDADE MAIS ADEQUADA PARA A VACINAÇÃO — CONTRAINDICAÇÕES DA VACINAÇÃO

Admite-se que o sarampo natural se transmite através de gotículas de secreções das vias aéreas do doente, mas ainda se discute a porta de entrada (Papp ⁶²).

A fim de indicar qual a via ideal de inoculação da vacina atenuada, Black e Sheridan⁶ compararam a eficácia de diferentes vias de inoculação, pesquisa esta que serviu, inclusive, para reavaliar a via natural de introdução do vírus em seres humanos. Um grupo de 60 crianças de uma instituição para retardados mentais, com idades variando entre 2 semanas e 2 anos, foi utilizado nessa experimentação. Testes de fixação de complemento e neutralização realizados antes das inoculações revelaram que apenas quatro crianças possuíam anticorpos contra o sarampo.

A *via subcutânea* foi utilizada em 9 crianças suscetíveis, sendo inoculados 0,15 ml (aproximadamente 50 T.C.I.D.₅₀ da vacina A de Enders). A vacina assim inoculada revelou-se 100% eficaz através de sintomas clínicos e testes sorológicos realizados 6 semanas após a inoculação. Nenhuma complicação surgiu entre os vacinados.

A *via oral* foi utilizada em 10 crianças suscetíveis, sendo introduzidos 0,2 ml de vacina com título de 3.000 T.C.I.D.₅₀ por 0,1 ml. A técnica empregada foi a de esfregar um algodão embebido na vacina na mucosa bucal, língua, orofaringe e palato. A vacina assim introduzida revelou-se ineficaz em 100% dos vacinados, uma vez que não houve aparecimento de sinais clínicos e tampouco aparecimento de anticorpos fixadores de complemento ou neutralizantes 6 semanas após a inoculação.

A *via conjuntival* (ocular) foi utilizada em 10 crianças suscetíveis e que foram divididas em 2 grupos de 5 cada. O primeiro grupo recebeu 1 gota de vacina (aproximadamente 1.500 T.C.I.D.₅₀) no saco conjuntival esquerdo. O outro grupo recebeu 2 gotas de vacina (aproximadamente 6.000 T.C.I.D.₅₀) em cada saco conjuntival.

Entre as crianças do 1.º grupo apenas uma demonstrou presença de anticorpos 6 semanas após a vacinação. Nenhuma criança do 2.º grupo demonstrou anticorpos após o mesmo período.

A *via nasal* foi utilizada em 11 crianças suscetíveis, divididas em 2 grupos de 5 e 6 crianças respectivamente. As 5 crianças do primeiro grupo receberam aproximadamente 0,2 ml de vacina contendo cerca de 5.000 T.C.I.D.₅₀. A técnica empregada foi a de esfregar um algodão embebido na vacina em uma narina. Três crianças desenvolveram febre e em duas delas surgiu exantema morbiliforme no 12.º dia de vacinação. Na terceira criança surgiu exantema discreto, semelhante ao do sarampo modificado por gamaglobulina. As três crianças apresentaram anticorpos neutralizantes 6 semanas após a vacinação.

As 6 crianças do segundo grupo receberam cerca de 10.000 T.C.I.D.₅₀ e somente uma respondeu clínica e sorologicamente. Nessa experimentação de Black e Sheridan⁶ verificou-se que não há disseminação do vírus quando é empregada a via subcutânea, uma vez que nenhuma das 9 crianças suscetíveis que

mantinham íntimo contato com as crianças vacinadas pela via subcutânea manifestou sinais clínicos ou evidência sorológica de infecção.

Em 1960, Kempe e col.⁴³ descreveram os resultados da vacinação com vírus atenuados em 69 indivíduos, sendo 45 por via subcutânea e 24 por via intradérmica.

Os resultados obtidos com a via subcutânea foram os seguintes :

- 47% de conversões sorológicas com a dose de 0,1 ml.
- 50% de conversões sorológicas com a dose de 0,05 ml.
- 62% de conversões sorológicas com a dose de 0,5 ml.

Considerando-se que os casos de não conversão sorológica ocorreram todos em indivíduos já imunes, conclui-se que a vacina foi eficaz em 100% dos casos.

Quando foi utilizada a via intradérmica os resultados foram :

- 81% de conversão sorológica com a dose de 0,1 ml.
- 50% de conversão sorológica com a dose de 0,05 ml.

Os casos de não conversão ocorreram todos em indivíduos já imunes.

Em 1961, Veronesi e col.⁹³ relataram os resultados preliminares obtidos com a vacina atenuada em crianças de São Paulo. Esses autores empregaram as seguintes vias de introdução : subcutânea, intradérmica e respiratória. Os resultados obtidos estão representados nas tabelas 20, 21 e 22.

Além disso, foram realizados estudos radiológicos e eletrocardiográficos antes e após a vacinação.

TABELA 20

Exantema: Frequência, tipo, extensão, localização e duração conforme a via empregada.

Via	Dose (ml)	N.º	% Exantema	Tipo		Localização			Duração média (dias)
				Morbiliforme	"Picada de mosquito"	Face	Face + tronco	Generalizado	
S.C.	0,5	19	26,3	4	1	2	3	0	2
I.D.	0,1	14	14,3	2	0	1	1	0	2
Resp.	4,0	4	—	0	0	0	0	0	0

Por esta tabela se conclui que a via mais eficaz é a subcutânea, uma vez que foi essa a que determinou com maior frequência o aparecimento de exantema, o qual ora se apresentava com o clássico aspecto morbiliforme, ora se apresentava como "picada de mosquito". Este último tipo de exantema foi observado também posteriormente, conforme relataremos.

TABELA 21

Temperatura: Freqüência de episódios febris, grau, duração e início, conforme o tipo da vacinação adotado.

Via	Dose (ml)	N.º	% febris	Temperatura			Duração média (dias)	Início (média)
				37-38º	> 38-39º	> 39º		
S.C.	0,5	19	68,4	10	2	1	3,1	13º
I.D.	0,1	14	35,7	3	2	0	1,7	7,6º
Resp.	4,0	4	50,0	0	2	0	2,5	15º

Os dados desta tabela confirmam as conclusões da tabela n.º 20, isto é, a via subcutânea é a mais eficaz, uma vez que a percentagem de indivíduos que tiveram manifestações febris foi maior quando se usou essa via.

TABELA 22

Percentagens de conversões sorológicas e títulos extremos de anticorpos neutralizantes, conforme o tipo de imunização adotado. Nesta tabela foram considerados apenas os indivíduos suscetíveis (não imunes).

Via	Dose (ml)	N.º	Anticorpos pré-vac. (média)	Anticorpos pós-vac. (média)	Títulos extremos Pós-vac. (média)	% de Conversões
S.C.	0,5	8	< 4	114	8 — 256	100,0
I.D.	0,1	7	< 4	92	4 — 128	85,7
Resp.	4,0	2	< 4	4	< 4	—

A tabela acima demonstra que a eficácia da via subcutânea é de 100% enquanto a intradérmica, embora com percentagem elevada (86% de conversões) se mostrou inferior. A via respiratória (aerosol) falhou completamente, demonstrando que a raça empregada não tem afinidade para com as células que revestem a árvore respiratória, ao contrário do que sucede com a raça "selvagem".

Critério de avaliação de prioridade para a vacinação: — A prioridade para a vacinação contra o sarampo deve ser regida pelos dados epidemiológicos, inquéritos sorológicos e pela presença de estados patológicos onde o sarampo natural determina elevada letalidade.

Quanto aos dados epidemiológicos, sabemos serem muito incompletos, mesmo em países onde a notificação se faz mais regularmente (Black⁵). Analisados os dados de mortalidade em diferentes países, verifica-se que mais de

90% das mortes ocorrem abaixo dos 2 anos de idade (Ristori e col.⁷⁴, Zhdanov⁹⁶), na maioria dos casos em decorrência de complicações pulmonares (pneumonias). No Chile (Ristori e col.⁷⁴), 42,3% das mortes de crianças de menos de 1 ano são causadas pelo sarampo. Após os 5 anos de idade a mortalidade é extraordinariamente menor, assim como a morbidade. No Brasil (Schmid⁷⁹, Moraes⁵⁴) também vamos observar os coeficientes de mortalidade mais elevados até os 3 anos de idade, sendo que o maior coeficiente é verificado no grupo etário de menos de 1 ano de idade. Em nosso país verifica-se que após os 5 anos de idade os coeficientes de mortalidade são bem mais baixos, caindo a valores próximos de zero na população de 10 anos e mais.

Nas vilas da Nigéria (Morley⁵⁵) 50% das crianças contraem sarampo antes de 17 meses de idade, fato que não é constatado em cidades grandes. Assim, aos 2 anos de idade, mais de metade das crianças da Nigéria já contraíram sarampo, enquanto apenas 25% desse grupo etário o fizeram na Inglaterra. Tal fato cresce de valor quando se sabe que o sarampo entre indivíduos subnutridos é acompanhado de altos coeficientes de letalidade nos primeiros meses de vida.

Na Índia (Taneja e col.⁸⁹) 46,1% dos casos de sarampo ocorrem entre 0 e 3 anos de idade e 80,8% das mortes por sarampo se dão neste grupo etário, enquanto se torna insignificante acima dos 5 anos.

Os dados epidemiológicos mais atualizados de nosso país foram computados neste trabalho e os comentários pertinentes foram realizados na ocasião. Todavia, foram os inquéritos sorológicos que se realizaram recentemente em várias regiões do globo que permitiram a valiação mais aproximada da realidade, uma vez que tais levantamentos propiciaram o estudo de grupos etários homogêneos e a descoberta de elevada percentagem de casos de "sarampo infeccioso", formas subclínicas talvez, e que confirmam a velha observação dos antigos: "morbilli sine morbus".

Em estudo sorológico para avaliação da presença de anticorpos para o sarampo, em várias regiões do globo, Black⁵ concluiu que a idade em que as pessoas contraem sarampo varia consideravelmente nas regiões estudadas, sendo que os anticorpos surgem mais precocemente em regiões de população mais densa, o contrário ocorrendo em regiões afastadas, como no círculo ártico, por exemplo. Nestas regiões, quando ocorre um surto epidêmico de sarampo, a letalidade é elevada, dada a grande percentagem de suscetíveis, inclusive em componentes de grupos etários que, em localidades de população mais densa, já são imunes.

Snyder e col.⁸⁵, em inquérito sorológico com exames de 900 amostras de sangue de representantes de todos os grupos etários de Baltimore (EE.UU), concluíram que os anticorpos fixadores de complemento surgem mais rápida-

mente do 2.^o ao 3.^o ano e no 6.^o ano de idade. Após os 10 anos, cêrca de 80 a 90% dos indivíduos já possuíam anticorpos em seu sangue. Até os 2 anos de idade apenas 30% dos indivíduos já adquiriram anticorpos, havendo portanto 70% de suscetíveis nesse grupo etário.

Veronesi e col.⁹³ em inquérito sorológico (teste de neutralização) realizado em 87 crianças de São Paulo (até 4 anos de idade) constataram que, no grupo etário de 1 a 12 meses, 73% era suscetível; no grupo de 12 a 24 meses, 60% era suscetível, enquanto no grupo de mais de 24 meses apenas 40% era suscetível. É de se ressaltar, todavia, que êsses resultados foram obtidos entre crianças já submetidas à triagem anamnéstica, sendo excluídas aquelas que já haviam referido sarampo no passado. Dessa maneira, conclui-se que cêrca de 40% das crianças já possuíam anticorpos contra o sarampo embora os pais negassem a observação de sintomatologia clássica da doença em seus filhos. Isto nos obriga a rever o quadro clínico do sarampo uma vez que, como ocorre em inúmeros outros processos mórbidos, devem ocorrer com freqüência, no sarampo, formas atenuadas e subclínicas (*portadores passivos*) que passam despercebidas mas que sorològicamente podem ser denunciadas. Tal fato, aliás, já foi mencionado por Kempe e col.⁴³ a propósito de inquérito realizado nos Estados Unidos da América e, mais recentemente, confirmado por Snyder e col.⁸⁵ e Krugman e col.⁴⁵, quando 25 a 30% das crianças com história negativa de sarampo apresentavam anticorpos para a doença.

Dessa maneira, conclui-se que o grupo etário que mais se beneficiaria com a vacinação contra o sarampo seria o de 0 a 3 anos, uma vez que a morbidade, mortalidade e letalidade são maiores entre indivíduos dêsse grupo, fato que vem confirmar os achados sorológicos que demonstram a maior percentagem de indivíduos suscetíveis nesta classe etária.

Todavia, independentemente do grupo etário, alguns indivíduos com certos processos mórbidos se beneficiariam com a vacinação antisarampenta, dado o decurso tormentoso, muitas vêzes fatal da doença entre os mesmos. Quere-mos nos referir aos tuberculosos, cardiopatas congênitos, asmáticos, pneumopatas crônicos ou congênitos, convalescentes de doenças depauperantes e subnutridos. A tuberculose encontra acesso fácil no indivíduo anergisado pelo sarampo e pode evoluir para formas graves, miliares, de prognóstico sombrio. De um modo geral, todo cardiopata (forma congênita ou adquirida), assim como os pneumopatas (forma congênita ou adquirida), toleram mal o sarampo, correndo risco de vida frente a essa virose. Quanto aos subnutridos, fácil é se avaliar a ação nefasta do sarampo entre êles quando se computa os elevados coeficientes de letalidade entre as crianças que habitam os países subdesenvolvidos. Os dados apresentados recentemente pelos pesquisadores indianos, nigerianos, brasileiros, chilenos e sul africanos ³⁶ estão a atestar claramente o quanto é imprescindível a vacinação contra o sarampo nessas regiões subdesenvolvidas.

Contra-indicações : A vacina contra o sarampo já tem sido testada em indivíduos com as mais variadas doenças a fim de constatar a tolerância ou a inconveniência da vacina em tais eventualidades. Assim, já foi experimentada em doentes com fibrose cística do pâncreas, em asmáticos e tuberculosos, em cardiopatas e em leucêmicos agudos ³⁶. Sômente nesta última eventualidade está ela contraindicada, uma vez que se verificou uma persistência grande do vírus no trato respiratório e conjuntiva, além da incapacidade de resposta imunitária por parte desses indivíduos.

Veronesi e col. ⁹³ constataram que não há inconveniência em vacinar crianças subnutridas, desde que vacinaram crianças nesse estado sem observar efeitos indesejáveis.

Reações clínicas à vacinação contra o sarampo. As principais reações clínicas atribuíveis à vacinação com vírus atenuados têm sido, com freqüências variáveis, febre e exantema. Assim, a febre surgiu em graus variáveis em 89% dos vacinados por Hornick e col. ³⁴, enquanto o exantema, nesses mesmos indivíduos, surgiu em 61% dos casos. Halonen e col. ²⁹ referem febre em todos os 22 indivíduos suscetíveis que receberam a vacina, enquanto o exantema apareceu em 85% dos casos. Manchas de Koplik surgiram em 35% dos seus pacientes. Foi referida tosse em 40% dos casos.

Krugman e col. ⁴⁵ encontraram respostas febris em todos os seus vacinados, sendo que 94% teve temperatura acima de 38° C. O início da elevação febril ocorreu, em média, no 7.º dia e teve a duração média de 3 dias.

Stokes e col. ⁸⁷ referem elevação de temperatura em 64%, 100%, 84%, 77%, 96% e 90%, conforme a comunidade com que trabalharam no Estado de Pennsylvania. Esses autores referem a seguinte freqüência de sintomas: exantema (4% em média), conjuntivite (2%), rinorréia (1%), tosse (1%), cefaléia (6%), irritabilidade (4%), mal estar (6% em média). Stokes e col. ³⁶ manifestaram-se favoráveis ao emprêgo da gamaglobulina para atenuação dos sintomas decorrentes da vacinação. Numerosas outras experimentações tem sido realizadas com a vacina viva atenuada, quase tôdas revelando os mesmos resultados, quer clínicos, quer sorológicos ³⁶.

Vários trabalhos têm sido publicados referentes às vantagens do emprêgo simultâneo da gamaglobulina com a vacina atenuada ³⁶.

Em nosso meio foram relatados resultados favoráveis por Veronesi e col. ⁹³, os quais vacinaram 37 crianças por diferentes vias e concluíram pela eficácia e segurança da vacina empregada. À tabela 21 já apresentamos as reações febris dos vacinados por esses autores, de acôrdo com a via de inoculação. À tabela 20 apresentamos a freqüência, tipo, extensão, duração e localização do exantema, conforme a via de inoculação empregada por aqueles pesquisadores.

Em face dos sintomas referidos, vários pesquisadores preconizaram o emprego simultâneo da gamaglobulina e todos referem atenuação dos sintomas sem interferência na capacidade antigênica da vacina, desde que empregada em doses baixas (0,02-0,04 por kg de peso) e não misturadas na mesma seringa.

Tendo em vista os resultados e as conclusões dos pesquisadores de outros países resolvemos testar a eficácia e as reações clínicas da vacina atenuada em nosso meio a fim de confirmar ou não os resultados apregoados, além de verificar se as condições ambientais e o estado nutritivo de nossas crianças determinavam reações diferentes daquelas observadas em outras regiões do globo.

NOSSA EXPERIÊNCIA COM A VACINA ATENUADA

Material e métodos. A vacina que empregamos foi a vacina n.º 3 do Laboratório Lederle *. Esta vacina foi obtida através da atenuação da raça Edmonston isolada por Enders e submetida a 13 passagens em embrião de galinha, 6 passagens em cultura de tecido de embrião de galinha, uma passagem em cultura de tecido de rim de macaco e 10 passagens em cultura de tecido de embrião de galinha. O líquido da cultura é submetido a uma tríplice lavagem para extrair o sêro de cavalo presente no meio de cultura e em seguida submetido a testes de esterilidade a vírus estranhos tais como o vírus B do herpes, o vírus Coxsackie e o da meningite coriolinfocitária. O produto é finalmente liofilizado e cada lote é submetido a testes de segurança e potência. Os títulos de vírus dessa vacina variam de 1.000 a 1.000.000 de T.C.I.D.₅₀/ml (50% de doses infecciosas para cultura de tecido). A vacina que empregamos revelava, originariamente, título infeccioso de $10^{4,5}$, ou seja, 31.500 T.C.I.D. por ml em células HeLa e $10^{3,5}$ em células de rim de macaco. Posteriormente foi ela submetida por nós a nova titulação (após 2 anos de conservação em geladeira comum) antes de iniciarmos nossa experimentação e o título revelado foi o de $10^{1,5}$ em cultura de tecido de células HeLa, comprovando assim a viabilidade longa da mesma quando liofilizada, fato êsse que permite o seu transporte, conservação e validade sem maiores cuidados ou preocupações.

Essa vacina foi testada exhaustivamente a partir de 1960 nos Estados Unidos da América (Karelitz e col. ³⁸) e em nosso país foi experimentada, pela primeira vez, no ano de 1961 por Veronesi e col. ⁹³.

Plano de estudo: Como se demonstra nas tabelas 23, 24, 25 e 26, 54 crianças de idades entre 9 meses e 4 anos foram selecionadas entre aquelas

* Gentilmente colocada à nossa disposição pela Divisão de Pesquisas da American Cyanamid (Cyanamid International) através dos Drs. F. C. Ottati e Joseph Daunas (New York) e Milton C. Siqueira (São Paulo).

que não haviam tido sarampo, segundo história dos pais. Apesar dessa referência, conforme se verifica à tabela 24, três crianças apresentavam anticorpos neutralizantes em título $> 1:4$ em seu sangue.

As crianças vivem em regime de internato, organização esta mantida por religiosas com subvenção parcial do Estado. Eram crianças saudáveis.

Dividimos as crianças em 4 grupos e realizamos a primeira sangria (pré-vacinal) no dia da vacinação e a sangria pós-vacinal foi realizada 1 mês após a mesma.

Cada grupo recebeu uma sigla a saber: 1) VA; 2) VAGG₁; 3) VAGG₂; e 4) GG₂. O significado das siglas é o seguinte:

- VA = vacina atenuada, 0,25 ml;
- VAGG₁ = vacina atenuada 0,25 ml mais gamaglobulina na dose de 0,02 mg/kg;
- VAGG₂ = vacina atenuada 0,25 ml mais gamaglobulina 0,04/kg;
- GG₂ = somente gamaglobulina 0,04 mg/kg. *

A vacina foi sempre inoculada por via subcutânea e a gamaglobulina por via intramuscular, em locais separados, isto é, não misturados na mesma seringa a fim de evitar a neutralização dos vírus "in vitro".

Somente foi possível o teste de neutralização nos soros pares, pré e pós-vacinais em 35 crianças, daí o menor número de indivíduos incluídos nas tabelas 23 e 24.

Técnica de laboratório

A técnica empregada por nós foi a seguinte:

Vírus padrão: Amostra Edmonston atenuada (isolada da vacina atenuada do Laboratório Lederle) e cultivada em células amnióticas humanas AV₃, mantidas com solução salina de Hanks contendo 0,5% de hidrolisado de lactalbumina e 5% de sêro de galinha.

Título: 1/2.000.

As dosagens do vírus padrão foram observadas durante 21 dias.

Técnica: As reações foram feitas em células KB, usando-se 100 a 200 DCT 50% de vírus padrão.

As diluições dos soros foram feitas com solução de Hanks tendo-se usado diluições duplas de 1/4 a 1/512. Todos soros foram inativados a 56° C du-

* A gamaglobulina que empregamos nos foi cedida gentilmente pelos Laboratórios Hemoderivate.

rante 30 minutos. A primeira e segunda amostras de sêro de mesmo paciente foram dosadas na mesma reação.

As misturas "diluição do sêro + vírus" foram incubadas durante 1 hora, à temperatura ambiente.

Em cada reação foram feitas para contrôle: a) titulação do vírus padrão; b) neutralização do vírus padrão com sêro humano conhecidamente positivo e negativo, cujos títulos foram 1:256 e 1:4 respectivamente.

A leitura foi feita no dia em que o vírus padrão produziu duas a três cruces de efeito citopático, o que ocorreu no 6.º, 7.º e 8.º dia de observação.

TABELA 23

Percentagens de conversões sorológicas e títulos extremos de anticorpos neutralizantes conforme o tipo de imunização adotado. Nesta tabela foram incluídos apenas os indivíduos suscetíveis (não imunes, < 1:4).

Grupo	N.º	Antic. pré-vac. (média)	Antic. pós-vac. (média)	Títulos extremos pós-vac. (média)	% de Conversões
VA	11	< 4	90	8 — 180	72,7
VAGG ₁	6	< 4	70	60 — 180	66,7
VAGG ₂	8	< 4	70	60 — 120	75,0
GG ₂	7	< 2	< 2	< 2	—

Conforme se constata à tabela n.º 23, os títulos de anticorpos mais elevados foram conseguidos com a vacina isoladamente e que deram, em média, título de 1:90, com extremos (média) de 1:8 e 1: 180. Quando associamos a gamaglobulina quer na dose de 0,02/kg quer na de 0,04/kg verificamos que o título médio foi mais baixo após a vacinação (1:70) e não houve diferença sensível quando empregamos 0,02 ou 0,04/kg. Apenas o título médio extremo foi mais alto quando empregamos 0,02/kg de gamaglobulina. Não houve diferença nítida nas percentagens de conversões, o que vem confirmar a discreta influência da gamaglobulina na atividade antigênica do vírus desde que empregada em doses baixas e em locais separados.

A gamaglobulina que empregamos era de baixo teor de anticorpos contra o sarampo (1:128). *

* O Laboratório Hemoderivate não nos forneceu o título de anticorpos contra o sarampo da sua globulina: o título de 1:128 foi por nós determinado.

É admitido que uma boa gamaglobulina deva conter, no mínimo, título de 1:400 de anticorpos contra o sarampo³⁶. Deve-se salientar que quando se fala em gamaglobulina contra qualquer doença é necessário saber o título de anticorpos específicos contidos na partida em uso, fato que não é observado em nosso meio. Os títulos de anticorpos na gamaglobulina de procedência estrangeira não são, certamente, os mesmos que são encontrados entre nós, uma vez que o "pool" de sangue, em nosso meio, deve conter títulos diferentes devido à diferença de prevalência das moléstias conforme a região do globo.

TABELA 24

Percentagens de conversões sorológicas e títulos extremos de anticorpos neutralizantes conforme o tipo de imunização adotado.

Nesta tabela foram incluídos apenas os indivíduos não suscetíveis (imunes, > 1:4).

Grupo	N.º	Antic. pré-vac. (média)	Antic. pós-vac. (média)	Títulos extremos pós-vac. (média)	% de Conversões
GG ₂	0	9	14	8 — 20	—
VAGG ₂	0	8	8	8	—
VAGG ₁	1	—	—	—	—
VA	2	—	—	—	—

À tabela n.º 24 constata-se que a vacina atenuada não atua em indivíduos que já possuem títulos protetores (> 1:4) em seu sangue, uma vez que não houve aumento nítido de anticorpos, quer com a vacina isoladamente, quer com a vacina associada à gamaglobulina.

TABELA 25

Temperatura: Freqüência de episódios febris, grau, duração e início, conforme o tipo de imunização adotado.

Grupo	N.º	% febris	Temperatura			Duração média (dias)	Início (média)
			37-38º	> 38-39º	> 39º		
VA	30	83,3	6	10	9	3,8	8,1
VAGG ₁	8	100,0	0	5	3	4,7	5,5
VAGG ₂	8	100,0	1	4	3	5,0	5,6
GG ₂	8	87,5	3	4	0	7,3	3,0

A tabela n.º 25 representa a freqüência com que surgiu a febre nos vacinados com e sem gamaglobulina e só com gamaglobulina. A resposta febril à vacina ocorreu geralmente entre o 5.º e 12.º dia pós vacina.

Os achados anotados nesse período foram considerados como decorrentes da vacinação, enquanto que os posteriores foram levados à conta de outras causas. O grupo controle (GG₂) serviu para demonstrar que outras doenças febris que ocorrem no mesmo período são causas de elevações febris, principalmente doenças respiratórias agudas.

No grupo que recebeu a vacina sem gamaglobulina (VA) tivemos elevação de temperatura em 83% dos indivíduos, sendo que 9 destes (30,0%) apresentaram temperatura maior que 39°C.

No grupo que recebeu a vacina mais 0,02/kg de gamaglobulina tivemos elevação de temperatura em 100% dos casos, sendo que 3 (37,5%) apresentaram temperatura maior que 39°C; no grupo que recebeu a vacina mais 0,04/kg de gamaglobulina tivemos este mesmo resultado.

No grupo que recebeu somente 0,04/kg de gamaglobulina tivemos elevação de temperatura em 7 (87,5%), mas em nenhum deles a temperatura foi maior que 39°C.

Em conclusão, podemos dizer que não houve, com as doses da gamaglobulina que empregamos, atenuação da elevação térmica conseqüente à vacinação. A duração média da permanência da febre também não apresentou grande diferença, notando-se mesmo que os que receberam somente gamaglobulina apresentaram período médio febril mais alto. A gamaglobulina não conseguiu alargar o período de incubação da vacina; pelo contrário, observou-se período mais longo quando se empregou a vacina isoladamente, num aparente paradoxo.

A explicação que procuramos dar a esses achados é a da baixa potência da gamaglobulina empregada (título 1:128), uma vez que com as mesmas doses outros autores notaram diferenças nítidas na atenuação da sintomatologia pós-vacinal ³⁶.

TABELA 26

Exantema: Frequência, tipo, extensão e duração, conforme o tipo e a dose da vacina adotada.

Grupo	N.º	% exantema	T I P O			Localização			Duração média (dias)
			Morbiliforme	«Picada de mosquito»	Outros	Face	face+tronco	Generalizado	
VA	30	73,3	16	6	0	13	7	2	2,3
VAGG ₁	8	87,5	6	1	0	4	3	0	3,1
VAGG ₂	8	87,5	5	2	0	3	4	0	2,6
GG ₂	8	37,5	0	0	3	3	0	0	1,7

* Eritema tipo alérgico-medicamentoso.

Constata-se na tabela 26 que a percentagem de exantema foi alta quer nos que receberam a vacina quer nos que receberam a vacina mais gamaglobulina. Um tipo de exantema que notamos com frequência nos vacinados foi o em "picada de mosquito", fato êsse que talvez possa ocorrer em casos de sarampo atenuado em natureza e que passam despercebidos por fugirem ao clássico aspecto morbiliforme.

Sòmente tivemos exantema generalizado em duas eventualidades, ambas com a vacina isoladamente. A localização preferencial é a face e o tronco, conforme já haviam notado outros pesquisadores ³⁶. Com a gamaglobulina isoladamente verificamos eritema tipo alérgico na face de 3 crianças. A duração média do exantema não sofreu alteração nítida com a gamaglobulina que empregamos. A explicação que damos é a mesma que avocamos para a influência na curva febril. O surgimento do exantema ocorreu, geralmente, com a queda da temperatura.

O número de indivíduos incluídos nesta tabela é maior que o das tabelas de conversões sorológicas porque foram relacionados nela também aqueles que não tiveram titulagens de anticorpos neutralizantes.

Outras reações: Não foram observadas nos vacinados certas reações que geralmente acompanham os casos de enfermidade natural, tais como: manchas de Koplik, conjuntivite, fenômenos catarrais, irritabilidade ou sonolência, distúrbios digestivos (anorexia, náuseas, diarréia).

Veronesi e col.³³, empregando a mesma vacina, fizeram controle eletrocardiográfico em 14 crianças vacinadas, radiográfico dos pulmões em 23 crianças e hematológico em 30 crianças, não tendo encontrado alterações importantes, nesses exames, que pudessem contraindicar o uso da vacina. Ape-

nas em 1 caso dêesses autores houve surgimento, na radiografia pós-vacinal, de quadro compatível com pneumonia atípica, cuja etiologia os autores não puderam esclarecer, apenas fazendo referência a casos de doenças respiratórias agudas no mesmo hospital na ocasião. Em 53% dos pacientes de Veronesi e col.⁹³ houve baixa do número total de leucócitos sem que, todavia, se observassem contagens abaixo de 5.000 leucócitos nesses indivíduos.

Gibbs e Rosenthal²⁴, realizando estudo eletrencefalográfico comparativo em crianças com sarampo natural e em vacinadas com a vacina atenuada, concluíram que não existem alterações nos vacinados suscetíveis, em contraste com os 51% de alterações eletrencefalográficas encontradas entre 680 indivíduos com sarampo e que não apresentavam evidencia clínica de encefalite. Dêesses indivíduos com alterações eletrencefalográficas, 3% demonstrou persistência das alterações após a fase aguda da doença.

Hosko e col.³⁵, inoculando o vírus atenuado do sarampo por via cisternal e subdural em macacos africanos, concluíram não haver alterações eletrencefalográficas indicativas de encefalopatia nos mesmos.

Comentários: A eficácia antigênica e protetora das vacinas atenuadas tem sido sobejamente comprovada, principalmente em extensas experimentações humanas realizadas nos Estados Unidos da América e na Rússia.

A resposta imunológica em indivíduos suscetíveis tem sido da ordem de 95 a 100%⁽³⁶⁾ desde que usada em concentrações adequadas de vírus e inoculada por via adequada (geralmente a subcutânea). O efeito profilático pôde ser comprovado entre os vacinados que cohabitavam em instituições onde irromperam surtos epidêmicos da doença (Krugman e col.⁴⁵, Veronesi e col.⁹³). Em nossa experimentação pudemos comprovar o efeito profilático da vacinação quando computamos os dados anuais referentes à morbidade por sarampo na instituição em que realizamos a pesquisa. Assim, de 1955 a 1961, constatamos a seguinte incidência de sarampo na Creche Catarina Labourê: 1955 (30 casos); 1956 (32 casos); 1957 (29 casos); 1958 (78 casos); 1959 (29 casos); 1960 (74 casos); 1961 25 casos). A nossa vacinação com vacina viva iniciou-se em agosto de 1962, tendo sido iniciada em outro grupo, no mês de abril de 1962, a vacinação com a vacina morta. Nenhum caso de sarampo ocorreu na Creche no ano de 1962, quando a média anual indicava a incidência de 42 casos anuais. No ano de 1963 (mês de janeiro e fevereiro) ocorreram 17 casos e pudemos verificar que havia entre eles 7 vacinados (vacina viva). Todavia, em 4 dêesses não ocorrera conversão sorológica por ocasião da vacinação, ficando restrita a 3 casos de falha, todos êles acometidos de formas leves, benignas, fato êsse já constatado por outros pesquisadores (Fadeeva e col.²¹ Levin e col.⁴⁶, Krugman e col.⁴⁵). Veronesi e col.⁹³ referem proteção total nos vacinados com vacina viva por ocasião de um surto epidêmico no hospital em que realizaram a experimentação.

Krugman e col.⁴⁵ constataram que o sarampo incidiu em 58 a 90% dos controles não vacinados enquanto nenhum caso ocorreu entre os vacinados.

As reações clínicas à vacina atenuada se limitam praticamente à febre e ao exantema, surgindo a febre em 83 e 100% dos vacinados suscetíveis e atingindo em 30 a 40% dos casos temperaturas acima de 39°C. Essas elevações febris, embora não acompanhadas de outros sintomas incapacitantes, têm limitado o emprêgo em menor escala da vacina atenuada, tendo sido preconizado o emprêgo da gamaglobulina para atenuar a sintomatologia indesejável, conforme resultados favoráveis comunicados por vários pesquisadores (Krugman e col.⁴⁵, Levin e col.⁴⁶). O emprêgo simultâneo da gamaglobulina, na dose de 0,02 a 0,04/kg (não na mesma seringa) tem sido indicado como o meio mais seguro e mais aceitável por parte dos pais ou responsáveis, uma vez que as reações clínicas são bem discretas enquanto a resposta em anticorpos neutralizantes ou fixadores de complemento atinge cêrca de 100% dos vacinados (Hilleman e col.³¹). A gamaglobulina, para exercer êste efeito, deve conter, nas doses empregadas acima, títulos neutralizantes de, no mínimo, 1:400. Quando os títulos são inferiores, é necessário fazer as correções correspondentes, aumentando as doses a inocular. A gamaglobulina que empregamos não foi eficiente na atenuação da sintomatologia porque o seu título (dosado por nós) era de 1:128. Variações grandes têm sido encontradas quando se dosam gamaglobulinas comerciais de diferentes procedências (Mc Crumb e col.⁴⁹). Do mesmo modo, o exantema se reduz a 2% ou 8%, apenas, dos vacinados quando se emprega a gamaglobulina associada. (Krugman e col. ⁴⁵).

Uma das objeções que se levantam contra o emprêgo da gamaglobulina associada à vacina é o seu custo. Todavia, deve-se argumentar que as doses a empregar são pequenas, o que torna o seu uso mais acessível. Assim, se empregarmos as doses de 0,02 ml/kg, iremos inocular, para uma criança de 25 quilos, apenas 0,5 ml, o que vem a custar aproximadamente * Cr\$ 250,00. O grupo etário mais suscetível é, em nosso meio, o de 0 a 2 anos e o pêso, nesse grupo, é de 10 a 20 kg aproximadamente.

Vejamos agora quais os argumentos mais fortes e convincentes para o emprêgo da vacinação contra o sarampo em nosso meio:

1) No estudo epidemiológico que apresentamos, ficou comprovado, através do estudo comparativo dos coeficientes de mortalidade em vários países e nas capitais brasileiras, que os nossos coeficientes são iguais ou mesmo maiores que os dos países que apresentam os maiores e mais alarmantes coeficientes de mortalidade por sarampo. Embora tendo diminuído a mortalidade por sarampo nos centros mais progressistas do país, vamos constatar,

* O preço atual da gamaglobulina comercial em nosso país é de Cr\$ 1.000,00 a 1.200,00 para cada frasco de 2 ml.

ainda, um coeficiente de mortalidade no Município de São Paulo igual a 7,65 por 100.000 habitantes, com uma média anual de 281 mortes, somente sobrepujada, quando computamos as doenças infecciosas e parasitárias, pela Tuberculose.

O sarampo, como causa de morte no município de São Paulo, contribui com quase 2 vezes o número de mortes causados pelo tétano, 2 vezes e meia o causado pela poliomielite aguda, 2 vezes e meia o causado pela difteria, e três vezes e meia a coqueluche.

Somente no interior do Estado de São Paulo morrem, atualmente, em média, 359 indivíduos por ano com sarampo. No interior desse Estado, o sarampo mata cerca de 5 vezes mais que a poliomielite anterior aguda!

A quase totalidade dos óbitos por sarampo, em nosso meio, ocorre na faixa etária de 0-4 anos, sendo o maior contingente encontrado entre 0 e 2 anos de idade.

No município do Rio de Janeiro o sarampo ocupa o 4.º lugar entre as causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias somente suplantado pela tuberculose, tétano e sífilis.

Em 1956, segundo relato do Dr. Noel Nutels, do Serviço de Proteção aos Índios, foi dizimada, quase que totalmente, pelo sarampo, uma tribo de índios em Mato Grosso, comprovando mais uma vez que, incidindo a doença em populações altamente suscetíveis, a letalidade é altíssima, inclusive entre os adultos não imunes.

2) Os indivíduos subnutridos quando contraem sarampo têm evolução tormentosa, com complicações frequentes e alto coeficiente de letalidade (Morley⁵⁵).

Em nosso país a subnutrição é a regra na maior parte do seu território e, dessa maneira, temos uma explicação para os altos coeficientes de mortalidade aqui observados, sendo que em certas regiões do Brasil os coeficientes de mortalidade suplantam os de regiões onde os coeficientes já são considerados alarmantes.

Assim, em Manaus o coeficiente de mortalidade (51,27 por 100.000 habitantes) suplanta os de Guatemala, México, Chile, União Sul Africana, China e Costa Rica, somente para mencionar os países que apresentam os mais altos coeficientes de mortalidade por sarampo.

Em Recife, capital de Pernambuco, temos coeficientes de mortalidade de 17 por 100.000 habitantes, igual ao encontrado entre a população de cor da União Sul Africana e superior ao do Chile, Costa Rica, China, Hong-Kong, e

outros países considerados na literatura como de elevadíssima mortalidade por sarampo.

3) Outras razões, válidas para quaisquer regiões do globo, são as seguintes:

- a) Incidência de encefalite na proporção de 1:700 casos com seqüelas graves, tais como: retardo mental, distúrbios motores, alterações do comportamento. Estudos eletroencefalográficos de 680 pacientes demonstraram que 51% apresentavam EEG anormal durante a fase aguda ou logo após a mesma. (Gibbs e Rosenthal ²⁴).

A poliomielite acarreta paralisias na proporção de 1:500 infectados (quicá até na proporção de 1:1.000), sendo de se considerar que as seqüelas mentais da encefalite são mais incapacitantes que as paralisias da poliomielite.

- b) Em países de alta incidência de tuberculose, o sarampo acarreta formas graves, disseminações hematogênicas de tuberculose, em crianças principalmente, devido à anergia, que acompanha a doença. Daí o interesse em vacinar crianças que vivem em promiscuidade com casos de tuberculose.
- c) Os doentes com afecções cardiovasculares (congênitas ou adquiridas) e os pneumopatas (forma congênita ou adquirida) devem ser vacinados dado o decurso tormentoso, quando não fatal, do sarampo nos mesmos.
- d) Tôdas as crianças suscetíveis e que sabe-se estarem em sua maioria na faixa de 0 a 4 anos. A prioridade deve recair sôbre as crianças de 0 a 2 anos, uma vez que os coeficientes letalidade são elevadíssimos nesse grupo etário, principalmente em crianças subnutridas e de baixo nível sócio-econômico.
- e) Incapacidade e perda de aulas, principalmente em épocas de epidemia, com conseqüentes gastos em medicamentos e transtornos na vida familiar.
- f) Outras complicações graves do sarampo são: cegueira, otite média supurada e pneumonias.
- g) A vantagem final da vacinação contra o sarampo é a de se poder escolher o período ideal para a imunização, quando não existem doenças e em períodos de férias.

Creemos serem convincentes os argumentos apresentados para justificar o emprêgo de vacinas contra o sarampo desde que estas não acarretem sintoma-

tologia intensa, sejam seguras com relação a acidentes que porventura possam acarretar, e determinem imunidade duradoura. Os passos a serem dados no futuro são os de se conseguir uma vacina mais atenuada, que determine discretas reações e seja antigênicamente capaz de produzir níveis satisfatórios de anticorpos. Tal meta já foi parcialmente conseguida por alguns pesquisadores. (Schwarz ⁸²).

Por outro lado, enquanto não se consegue uma linha estável de vacinas altamente atenuadas, teremos que recorrer à associação com a gamaglobulina ou às vacinas inativadas, altamente concentradas ou, como preconizam outros, (Karelitz e Peck ³⁷), a imunização prévia com vacinas inativadas e, posteriormente, a vacinação com a vacina atenuada a fim de provocar imunidade duradoura.

Parte VII

VACINAS INATIVADAS («MORTAS»). INQUÉRITOS CLÍNICO-SOROLÓGICOS. NOSSA EXPERIÊNCIA

Um fato inverso ao ocorrido com as vacinas da poliomielite ocorreu com as vacinas do sarampo. Assim, enquanto as vacinas inativadas (tipo Salk) foram as mais largamente empregadas na luta contra a poliomielite, somente alguns anos após cedendo lugar às vacinas atenuadas (tipo Sabin), verificamos que o contrário ocorre com o sarampo, onde as vacinas atenuadas (tipo Enders) foram as que tiveram a mais ampla experimentação inicial, enquanto as vacinas inativadas somente em 1960 começaram a ser experimentadas em maior escala.

Preparo da vacina: A raça Edmonston de Enders é cultivada em cultura de tecidos (células amnióticas) inicialmente e, posteriormente, em células de rim de macaco. Após centrifugação do meio de cultura que contem o vírus é este inativado pelo formol a 37°C. A seguir faz-se a adsorção do vírus por método de precipitação e o precipitado é submetido a lavagens para extração do formol e traços de antibióticos empregados no meio de cultura. É finalmente adicionado alume como adjuvante. A vacina deve ser conservada a 5°C e sua potência permanece inalterada por 1 ano, no mínimo.

Testes de segurança são realizados antes de liberar a vacina, os quais incluem inoculações em animais e culturas de tecidos, esterilidade, bacteriologia, análise química, para verificação de presença de formol e antibióticos, conteúdo protéico, etc.

Como as vacinas inativadas empregadas inicialmente eram de baixo poder antigênico (Hilleman e col. ³²), são elas submetidas previamente a testes de potência em cobaias e macacos, medindo-se os níveis de anticorpos pelos testes de neutralização, fixação de complemento e inibição da hemaglutinação.

Através de novas técnicas de concentração (Warren e Gallian ⁹⁴) conseguiram-se vacinas inativadas altamente imunogênicas capazes de determinar conversões sorológicas e proteção contra o sarampo em cerca de 65 a 96% dos casos (Karzon e col. ¹⁰) conforme se usou, respectivamente, 1 só dose e 3 doses.

Eficácia da vacina: Os primeiros resultados da eficácia da vacina em prevenir o sarampo humano foram desalentadores, quando foi ela testada em uma epidemia, por Hilleman e col.³² nos Estados Unidos da América, os quais apregoaram as desvantagens da vacina inativada por ser menos eficaz, necessidade de injeções múltiplas e de injeções de refôrço.

Todavia, a despeito dos resultados adversos iniciais, continuaram os pesquisadores melhorando a potência da vacina morta, até que conseguiram uma vacina altamente potente capaz de determinar o aparecimento de anticorpos em 80 a 100% dos indivíduos suscetíveis (Carter e col. ¹⁴). O nível de anticorpos assim induzidos caem a níveis não protetores após 6 meses mas permanece um estado de sensibilização capaz de reagir prontamente à inoculação do vírus "selvagem" de maneira a abortar os sintomas da doença. (Feldman ²²).

Karelitz e Pek ³⁷, experimentando a vacina morta em 401 crianças, concluíram que com 3 injeções há conversão sorológica em 100% dos casos e com duas injeções em 90% dos casos, mas em níveis inferiores de anticorpos. As crianças que receberam 3 injeções, ao serem inoculadas com o vírus vivo atenuado não apresentaram sinais clínicos de sarampo, enquanto as que receberam 1 só dose apresentaram, à inoculação da vacina atenuada, febre em 35% e exantema leve em 0,5%. Esses autores sugerem a administração de vacina com vírus inativado antes da vacinação com vírus atenuado, como uma alternativa ao uso da gamaglobulina, no sentido de se evitarem estes sintomas.

Nossa experiência com a vacina inativada (vacina "morta"). *Material e métodos:* A vacina inativada que empregamos foi uma vacina de sarampo adsorvida pelo alume, prepara pelos Laboratórios da "Eli Lilly Company" *.

Conforme se verifica nas tabelas 27 e 28, foram selecionadas 33 crianças hígidas que, pela anamnese obtida dos pais, não referiam sarampo no passado. No entanto, o mesmo fato ocorrido com as crianças selecionadas para a vacinação com a vacina viva deu-se também com este grupo de crianças. Assim, 19 crianças já possuíam imunidade (título > 1:4) e serviram apenas para se avaliar o efeito "booster" da vacina morta.

* Gentilmente posta à nossa disposição pelo Laboratório Eli Lilly Co. de Indianópolis, através do Dr. Gregório Oclander, da Divisão Internacional de Pesquisas Clínicas do referido Laboratório.

As crianças tinham idades que se situavam entre 33 e 58 meses, com média de 37 meses, e foram divididas em 2 grupos A e B, sendo que o grupo A recebeu 3 doses de 1 ml cada, via subcutânea, com intervalo de 3 semanas entre as doses; o grupo B recebeu 2 doses de 1 ml, via subcutânea, com intervalo de 3 semanas entre as doses.

A técnica de dosagem dos anticorpos neutralizantes já foi descrita na parte da vacina atenuada.

A instituição em que realizamos a experimentação foi a mesma da vacinação com vírus atenuados.

Resultados: Os resultados estão representados nas tabelas 27 e 28.

TABELA 27

Percentagens de conversões sorológicas e títulos extremos de anticorpos neutralizantes. Foram incluídos nesta tabela apenas os indivíduos suscetíveis (título < 1:4).

Grupo	N.º	Antic. antes vac. (média)	Antic. pós-vac. (média)	Títulos extremos (média)	% de Conversões
A	5	< 4	14	< 4 — 32	60
B	9	< 4	6	< 4 — 16	11

Da análise da tabela n.º 27 se conclui que a média de anticorpos atingida 1 mês após a inoculação da última dose é cerca de 2 vezes e meia superior àquela pela inoculação de 2 doses.

A percentagem de conversões atingida com 3 doses de vacina morta foi de 60%, inferior àquela obtida por Karelitz e Peck³⁷. Quando empregamos apenas duas doses (grupo B) constatamos que, além de os títulos estarem em níveis inferiores aos obtidos com 3 doses, as conversões ocorreram em apenas 11% dos vacinados. Todavia, o fato de não serem dosados anticorpos no sangue em níveis maiores que 1:4 não significa necessariamente que o indivíduo vacinado não esteja sensibilizado e em condições de formar anticorpos quando agredido pelo vírus "selvagem", principalmente se considerado o período relativamente longo de incubação do sarampo (Warren e Gallian⁹⁴). A gama-globulina em níveis indosáveis no sangue também protege ou atenua o sarampo.

Por ocasião do surto que ocorreu na nossa creche (17 casos) em janeiro-fevereiro de 1963, nenhum caso se deu entre os vacinados com vacina morta, a despeito dos títulos mencionados à tabela 27 e das crianças que não apresentaram conversão sorológica.

TABELA 28

Percentagens de conversões sorológicas e títulos extremos de anticorpos neutralizantes. Foram incluídos nesta tabela apenas os indivíduos não suscetíveis (título > 1:4).

Grupo	N.º	Antic. antes vac. (média)	Antic. pós-vac. (média)	Títulos extremos • (média)	% de Conversões
A	11	80	108	8 — 128	45
B	8	200	212	8 — 1024	25

Da análise da tabela n.º 28 se conclui que ocorre efeito “booster” com a vacina morta, havendo 45% de percentagem de aumento do título com 3 doses e apenas 25% quando empregamos duas doses. O efeito “booster” com a vacina inativada fôra observado já anteriormente por outros pesquisadores (Karelitz e Peck³⁷). Conforme já mencionamos (tabela n.º 24) não observamos efeito “booster” em indivíduos imunes que receberam a vacina atenuada.

Reações clínicas: Em nenhuma das 33 crianças se observou elevação de temperatura, exantema, fenômenos catarrais, conjuntivite ou indisposição.

Conclusões: A vacina inativada que empregamos não ofereceu o mesmo resultado que se tem obtido com vacinas mais concentradas. Assim, enquanto Kempe (cit. 14) obteve apenas 35% de conversões em 47 crianças (com 3 doses), Carter e col. ¹⁴, asseguraram que, se empregarmos quantidades adequadas de vacinas concentradas, teremos conversões em 90 a 100% dos suscetíveis inoculados. Os resultados que obtivemos são intermediários entre os 2 citados e a nossa impressão é a de que vacinas convenientemente concentradas apresentarão melhores resultados, sem os inconvenientes apontados para algumas vacinas vivas. Uma das vantagens da vacina morta é a possibilidade de ser juntada à vacina tetra, isto é, contra tétano-difteria-coqueluche e poliomielite, de maneira a permitir a penta-imunização (Feldman²², Warren e Galilian ²⁴). Entre as desvantagens da vacina morta temos as seguintes:

- 1) Necessidade de duas ou 3 doses.
- 2) Necessidade, provável, de “booster” (refôrço) quando ocorrerem epidemias após 1 ano da vacinação basal.
- 3) Níveis mais baixos e menos duradouros de anticorpos dos que obtemos com a vacina viva atenuada.

É possível que no futuro se adote um esquema em que a vacina morta seja inoculada inicialmente e, posteriormente, se injete a vacina viva, sendo neces-

sário que se estabeleçam as doses, potência e intervalos das vacinas a fim de se conseguir um máximo de rendimento com um mínimo de dispêndios. Dessa maneira se dispensaria o emprêgo da gamaglobulina e teríamos uma imunidade duradoura, quiçá permanente, à semelhança da que é conferida pelo sarampo natural.

RESUMO

Os coeficientes de mortalidade por sarampo são alarmantes no Brasil. A doença ocupa, em diferentes municípios, do segundo ao quarto lugar como causa de morte entre as doenças infecciosas e parasitárias. O sarampo mata, entre nós, mais que a difteria, poliomielite, tétano, coqueluche e varíola. A maioria dos óbitos ocorre no grupo etário de 0 a 2 anos.

Foi recapitulada a evolução dos conhecimentos sôbre a prevenção do sarampo até as vacinas que os A. A. experimentaram.

As relações entre o vírus do sarampo e o da cinomose foram comentadas, inclusive as experimentações conduzidas nesse sentido por um dos autores do trabalho.

Foram realizados estudos comparativos sôbre a sensibilidade das provas de inibição da hemaglutinação e de neutralização, demonstrando-se grande reprodutibilidade de resultados.

Os estudos sorológicos em vacinados com vacinas com vírus atenuados ou inativados demonstraram maior percentagem de conversões com a primeira.

Por outro lado, não foram observados, com a vacina com vírus inativado, os efeitos indesejáveis (febre e exantema) que foram constatados com a vacina com vírus atenuado. Foi recomendada a necessidade da aplicação de 3 doses de vacina com vírus inativado para atingir maior percentagem de conversões.

A despeito da febre e discreto exantema, as crianças vacinadas com a vacina viva podiam brincar, sem fenômenos catarrais ou grande indisposição.

Estudos eletrocardiográficos e radiográficos dos vacinados com vacina viva não revelaram alterações atribuíveis à vacina.

A incidência de sarampo na creche onde trabalharam caiu de 30 a 50 casos por ano (média de 10 anos) para zero durante o ano de 1962 (ano em que iniciaram a vacinação). Sômente 3 casos de sarampo discreto foram observados entre os vacinados durante os 5 primeiros meses de 1963. O restante das crianças não contraiu sarampo quando em contacto com doentes internados na creche.

sário que se estabeleçam as doses, potência e intervalos das vacinas a fim de se conseguir um máximo de rendimento com um mínimo de dispêndios. Dessa maneira se dispensaria o emprêgo da gamaglobulina e teríamos uma imunidade duradoura, quiçá permanente, à semelhança da que é conferida pelo sarampo natural.

RESUMO

Os coeficientes de mortalidade por sarampo são alarmantes no Brasil. A doença ocupa, em diferentes municípios, do segundo ao quarto lugar como causa de morte entre as doenças infecciosas e parasitárias. O sarampo mata, entre nós, mais que a difteria, poliomielite, tétano, coqueluche e varíola. A maioria dos óbitos ocorre no grupo etário de 0 a 2 anos.

Foi recapitulada a evolução dos conhecimentos sôbre a prevenção do sarampo até as vacinas que os A. A. experimentaram.

As relações entre o vírus do sarampo e o da cinomose foram comentadas, inclusive as experimentações conduzidas nesse sentido por um dos autores do trabalho.

Foram realizados estudos comparativos sôbre a sensibilidade das provas de inibição da hemaglutinação e de neutralização, demonstrando-se grande reprodutibilidade de resultados.

Os estudos sorológicos em vacinados com vacinas com vírus atenuados ou inativados demonstraram maior percentagem de conversões com a primeira.

Por outro lado, não foram observados, com a vacina com vírus inativado, os efeitos indesejáveis (febre e exantema) que foram constatados com a vacina com vírus atenuado. Foi recomendada a necessidade da aplicação de 3 doses de vacina com vírus inativado para atingir maior percentagem de conversões.

A despeito da febre e discreto exantema, as crianças vacinadas com a vacina viva podiam brincar, sem fenômenos catarrais ou grande indisposição.

Estudos eletrocardiográficos e radiográficos dos vacinados com vacina viva não revelaram alterações atribuíveis à vacina.

A incidência de sarampo na creche onde trabalharam caiu de 30 a 50 casos por ano (média de 10 anos) para zero durante o ano de 1962 (ano em que iniciaram a vacinação). Sômente 3 casos de sarampo discreto foram observados entre os vacinados durante os 5 primeiros meses de 1963. O restante das crianças não contraiu sarampo quando em contacto com doentes internados na creche.

S U M M A R Y

Measles mortality rates are alarming in Brazil. The disease occupies in different counties, from second to fourth place as cause of death among infectious and parasitic diseases. Measles kills in Brazil more than Diphtheria, Poliomyelitis, Tetanus, Pertussis and Smallpox. The majority of deaths occur at the age of 0-2 years.

It was reminded the natural story of measles prevention up to the vaccines they tried.

Relations between measles and distemper viruses were commented, including the results of the prior experiences of one of the authors of the work.

Comparison between neutralisation and hemagglutination-inhibition tests showed paralel results.

Serological appraisal on measles live-virus vaccine and inactivated vaccine showed higher percentage of conversions with live-virus vaccine.

On the other side no untoward effects could be demonstrated with the inactivated vaccine; they emphasized the necessity of 3 dosis of inactivated vaccines to get higher percentage of conversions.

Despite fever and scanty rash, children could play, without catarrhal fenomenons or intensive malaise, when vaccinated with live-virus-vaccine.

Electrocardiographic and X-ray studies did not show abnormalities among the live-virus vaccinées.

The incidence rates of measles in the nursery dropped from 30 to 50 each year to zero during 1962, when vaccination was started. Only three cases of mild measles were observed in that nursery among the vaccinées during the first 5 months of 1963.

A G R A D E C I M E N T O S

Agradecemos a colaboração que nos foi prestada pelos Srs. Walter Carvalho Teixeira e Caio de Freitas Guimarães, do D.E.E.S.P.; Drs. Herros Capello e Gonçalo Feliciano Alves, da S.E.P.G.; Drs. José de Toledo Piza e Eolo de Arruda Milano, da D.S.I., que nos cederam valiosos dados de estatística vital.

Consignamos também os nossos agradecimentos à Madre Superiora Inez Fiuza e às Irmãs Elizabeth, Inez e Lúcia, da Creche Catharina Labourê, pela valiosa cooperação que emprestaram durante o período de experimentação naquela instituição.

R E F E R Ê N C I A S

1. ADAMS, J. M. — Comparative study of canine distemper and respiratory disease of man. *Pediatrics*, 11: 15-21, 1953.
2. ADAMS, J. M. e IMAGAWA, D. T. — Immunological relationship between measles and distemper viruses. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 96: 240-248, 1957.
3. ADAMS, J. M. *et alii* — Giant cell pneumonia. Clinicopathologic and experimental studies. *Pediatrics*, 18: 888-893, 1956.
4. ANDERSON, J. F. e GOLDBERGER, J. — Experimental measles in the monkey: a preliminary report. *Public Health Rep.* 26: 847-854, 1911.
5. BLACK, F. L. — Measles Antibody Prevalence in Diverse Populations. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 242-250, 1962.
6. BLACK, F. L. e SHERIDAN, S. R. — Studies on an attenuated measles virus vaccine IV. Administration of vaccine by several routes. *New Engl. J. Med.* 263: 153-160, 1960.
7. BLACK, F. L., REISSIG, M. e MELNICK, J. L. — Propagation of measles virus in a strain of human epidermoid cancer cells (Hep-2). *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 93: 107-112, 1956.
8. BRYAN, A. H. — Canine distemper, danger to children. *Vet. Med.* 23: 396-402, 1928.
9. CABASSO, V. J. e COX, H. R. — Propagation of canine distemper virus in the chorioallantoic membrane of embryonated hen eggs. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 71: 246-253, 1949.
10. CABASSO, V. J., KISER, K. e STEBBINS, M. R. — Propagation of canine distemper (CD) virus in tissue culture. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 100: 551-556, 1959.
11. CARLSTRÖM, G. — Neutralization of canine-distemper virus by serum of patients convalescent from measles. *The Lancet*, 17: 344-351, 1957.
12. CARLSTRÖM, G. — Comparative studies on measles and distemper viruses in suckling mice. *Arch. ges. Virusforsch.* 8: 527-532, 1959.
13. CARLSTRÖM, G. — Correlation between canine distemper and measles virus neutralizing capacities in human sera. *Arch. ges. Virusforsch.* 8: 539-546, 1959.
14. CARTER, C. H. *et alii* — Serologic Response of Children to Inactivated measles Vaccine. *J.A.M.A.* 179: 848-853, 1962.
15. CURNEM, E. C., SILVERMAN, J. A., BLUMENTHAL, S. e MEYER, H. M. — Attenuated measles vaccine in children with cardiac disease. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 410-412, 1962.
16. CUTCHINS, E. C. — A comparison of the Hemagglutination — inhibition, neutralization and C. F. tests in the Assay of antibody to measles. *J. Immun.* 88: 788-795, 1962.
17. DEKKING, F. e MCCARTHY, K. — Propagation of measles virus in human carcinoma cells. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 93: 1-9, 1956.
18. DOLGIN, J. *et alii* — Immunizing properties of live attenuated measles virus. *J. Pediat.* 57: 36-43, 1960.
19. ENDERS, J. F. e PEEBLES, T. C. — Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 86: 277-286, 1954.
20. ENDERS, J. F., KATZ, S. L., MILOVANOVIC, M. V. e HOLLOWAY, A. — Studies on an attenuated measles-virus vaccine: I. Development and preparation of the vaccine; Technics for assay of effects of vaccination. *New Engl. J. Med.* 263: 153-160, 1960.
21. FADEEVA, L. L., DADASHYAN, M. A., LEBEDEV, D. D. e ZHDANOV, V. M. — Attenuated measles-virus vaccine in the U.S.S.R. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 379-381, 1962.

22. FELDMAN, H. A. — Protective Value of Inactivated Measles Vaccine. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 423-425, 1962.
23. FULTON, F. e DUMBELL, K. R. — The serological comparison of strain of influenza virus. *J. Gen. Microb.* 3: 97-99, 1949.
24. GIBBS, F. A. e ROSENTHAL, I. M. — Electroencephalography in natural and attenuated measles. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 395-400, 1962.
25. GILLESPIE, J. H. e KARZON, D. T. — A study of the relationship between canine distemper and measles in the dog. *Proc. Exper. Biol. & Med.* 105: 547-554, 1960.
26. GOLDBERGER, J. e ANDERSON, J. F. — The nature of the virus of measles. *J.A.M.A.* 57: 971-978, 1911.
27. GORET, P. — Immunité croisée entre la maladie de Carré et la peste bovine. *Bull. Acad. Vét. France.* 31: 163-170, 1958.
28. HAIG, D. A. — Preliminary note on the cultivation of Green's distemploid virus in fertile hen's eggs. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 23: 149-156, 1958.
29. HALONEN, P. *et alii* — Vaccination with attenuated measles virus vaccine. Clinical and Immunological Studies. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 347-350, 1962.
30. HEKTOEN, L. — Experimental measles. *J. Infect. Dis.* 2: 238-245, 1905.
31. HILLEMANN, M. R. *et alii* — Ender's live measles-virus vaccine with immune globulin. II Evaluation of efficacy. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 372-379, 1962.
32. HILLEMANN, M. R. *et alii* — Immunogenic response to killed measles-virus vaccine. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 444-452, 1962.
33. HOEKENGA, M. T., SCHWARZ, A. J. F., PALMA, H. C. e BOYER, P. A. — Experimental vaccination against measles. II Tests of live measles and live distemper vaccine in human volunteers during a measles epidemic in Panama. *J.A.M.A.* 173: 868-875, 1960.
34. HORNICK, R. B. SCHLUEDERBERG, A. E., McCRUMB, F. R. — Vaccination with live attenuated measles virus. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 344-347, 1962.
35. HOSKO, M. J. *et alii* — Electroencephalography in monkeys infected with measles. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 400-402, 1962.
36. INTERNATIONAL Conference on Measles Immunization. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 212-528, 1962.
37. KARELITZ, S. e PECK, F. B. — Experience with measles immunization Alum-absorbed killed measles-virus vaccine and live measles-virus vaccine challenge. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 427-429, 1962.
38. KARELITZ, S. *et alii* — Measles vaccine. *J.A.M.A.* 177: 537-544, 1961.
39. KARZON, D. T. — Studies on a neutralizing antibody against distemper virus found in man. *Pediatrics*, 16: 809-816, 1955.
40. KARZON, D. T. *et alii* — Field Trial of Inactivated Measles Vaccine. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 425-427, 1962.
41. KATZ, S. L. e ENDERS, J. F. — Immunization of children with a live attenuated measles virus. *Amer. J. Dis. Child.* 98: 605-612, 1959.
42. KATZ, S. L. ENDERS, J. F. e HOLLOWAY, A. — Use of Edmonston attenuated measles strain. A summary of three years' experience. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 340-344, 1962.
43. KEMPE, C. H., OTT, E. W., VINCENT, L. S. e MAISEL, J. C. — Studies on an attenuated measles-virus vaccine; III Clinical and antigenic effects of vaccine in institutionalized children. *N. Engl. J. Med.* 263: 162-165, 1960.

44. KRESS, S. *et alii* - Studies with live attenuated measles-virus vaccine: II. Clinical and Immunologic Response of children in an open Community. *Amer. J. Dis. Child.* **101**: 701-708, 1961.
45. KRUGMAN, S. *et alii* - Studies with live attenuated measles-virus vaccine. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 353-363, 1962.
46. LEVIN, S. *et alii* - Attenuated measles-virus vaccine studies in Israel. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 363-366, 1962.
47. McCRUMB JR., F. R. *et alii* - Studies with live attenuated measles-virus vaccine: I Clinical and Immunologic Responses in Institutionalized children. *Amer. J. Dis. Child.* **101**: 689-693, 1961.
48. McCRUMB JR., F. R. *et alii* - Studies with live attenuated measles-virus vaccine: III. Development of a practical method for large-scale immunization. *Amer. J. Dis. Child.* **101**: 708-715, 1961.
49. McCRUMB JR., F. R. *et alii* - Globulin-modified, live attenuated measles-virus vaccination. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 350-353, 1962.
50. MEYER, Jr., H. M., BROOKS, B. E., DOUGLAS, R. D. e ROGERS, M. G. - Measles serologic standards. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 495-501, 1962.
51. MILLIAN, S. J. *et alii* - Antibody response of man to canine distemper virus. *J. Bact.* **79**: 616-623, 1960.
52. MILOVANIC, M. V., ENDERS, J. F. e MITUS, A. - Cultivation of measles virus in human amnion cells and in developing chicks embryo. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **95**: 120-128, 1957.
53. MITUS, A., HOLLOWAY, A., EVANS, A. E. e ENDERS, J. F. - Attenuated measles vaccine in children with acute leukemia. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 413-418, 1962.
54. MORAES, N. L. A. - Medical Importance of Measles in Brazil. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 233-236, 1962.
55. MORLEY, D. C. - Measles in Nigeria. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 230-233, 1962.
56. MORSE, H. G., CHOW, T. L. e BRADLEY, C. A. - Propagation of a strain of egg-adapted distemper virus in suckling mice. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **84**: 10-17, 1953.
57. MOURA, R. A. - The influence of serum on the cytopathic effect of measles virus. *Arch. ges. Virusforsch.* **11**: 487-494, 1961.
58. MOURA, R. A. e WAREN, J. - Subclinical infection of dogs by canine-adapted measles virus evidenced by their subsequent immunity to canine distemper virus. *J. Bacteriol.* **82**: 702-709, 1961.
59. NICOLLE, C. - La maladie de jeune âge des chiens est transmissible expérimentalement à l'homme sous forme inapparente. *Arch. Inst. Pasteur Tunis.* **20**: 321-328, 1957.
60. OKUNO, Y. - Vaccination with egg passage measles virus by inhalation. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 381-384, 1962.
61. OKUNO, Y. *et alii* - Studies on the prophylaxis of measles with attenuated living virus: IV. Inoculation tests in children with chick embryo passage measles-virus in 1960. *Biken's J.* **3**: 293-298, 1960.
62. PAPP, K. - Contagion des virus à travers une conjunctive intacte: rougeole, oreillons, rubéole. *Rev. Immunol. (Paris).* **18**: 380-385, 1954.
63. PARIES, J. R. & CHANY, C. - Activité hémaglutinante et hemolitique des virus morbilleux. *Compt. rend. Acad. Sci.* **251**: 820-827, 1960.
64. PINKERTON, H., SMILEY, W. L., ANDERSON, W. A. D. - Giant cell pneumonia with inclusions. A lesion common to Hecht's disease, distemper and measles. *Amer. J. Pathol.* **21**: 1-8, 1945.

65. PLOWRIGHT, W. e FERRIS, R. D. — Cytopathogenicity of rinderpest virus in tissue culture. *Nature*, 179: 316-323, 1957.
66. PLOWRIGHT, W. e FERRIS, R. D. — Studies with rinderpest virus in tissue culture, I. Growth and cytopathogenicity. *J. Comp. Path. & Therap.* 69: 152-159, 1959.
67. RAKE, G. e SHAEFFER, M. F. — Propagation of the agent of measles in the fertile hen's egg. *Nature (Lond.)* 144: 672-679, 1939.
68. RAKE, G. e SHAEFFER, M. F. — Studies on measles. I. The use of the chorio-allantois of the developing chick embryo. *J. Immunol.* 38: 177-184, 1940.
69. RAPPORT épidémiologique et démographique (OMS) 4: 2-3, 1951.
70. RAPPORT épidémiologique et démographique (OMS) 9: 7, 1956.
71. RAPPORT épidémiologique et démographique (OMS) 10: 8, 1957.
72. REISSIG, M. — Electron microscopic study of the cytopathic change induced by measles virus. *Federation Proc.* 17: 532-539, 1958.
73. REISSIG, M. BLACK, F. L. e MELNICK, J. L. — Formation of multinucleated giant cells in measles virus infected cultures deprived of glutamine. *Virology* 2: 836-843, 1956.
74. RISTORI, C. *et alii* — Medical importance of measles in Chile. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 236-242, 1962.
75. ROCKBORN, G. — Canine distemper virus in tissue culture. *Arch. ges. Virusforsch.* 8: 1-8, 1958.
76. ROSANOFF, E. I. — Hemagglutination and hemadsorption of measles virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 106: 563-570, 1961.
77. ROSEN, L. — A hemagglutination-inhibition technique for typing adenoviruses. *Am. J. Hyg.* 71: 120-125, 1960.
78. ROSEN, L. — Hemagglutination and hemagglutination-inhibition with measles virus. *Virology*, 13: 139-146, 1961.
79. SCHMID, A. W. — Alguns dados epidemiológicos sobre a mortalidade por doenças transmissíveis respiratórias agudas no Município de São Paulo. *Arq. Fac. Hig. Saúde Públ. S. Paulo*, 13: 263-370, 1959.
80. SCHMID, A. W. — Mortalidade e morbidade por doenças transmissíveis no Município de São Paulo no grupo etário de 0-9 anos (1959-1960). *Pediat. prat. (S. Paulo)*, 33 (5): 133-162, 1962.
81. SCHWACHMAN, H., KATZ, S. e KULCZYCHI, L. — Attenuated measles vaccine in Cystic Fibrosis. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 405-409, 1962.
82. SCHWARZ, A. J. F. — Preliminary tests of a highly attenuated measles vaccine. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 386-390, 1962.
83. SILVA, A. de M. — O Departamento Nacional de Saúde em 1958. Rio de Janeiro, 1960.
84. SMORODINTSEV, A. A. *et alii* — Clinical and immunological response to live tissue culture vaccine against measles. *Acta Virol. (Engl.)* 4: 201-205, 1960.
85. SNYDER, M. J. *et alii* — Observations on the seroepidemiology of measles. *Amer. J. Dis. Child.* 103: 250-254, 1962.
86. STOKES Jr., J. *et alii* — Efficacy of live, attenuated measles-virus vaccine given with human immune globulin: a preliminary report. *New Engl. J. Med.* 265: 507-514, 1961.

VERONESI, R. *et alii*. Revisão de dados da epidemiologia e etiologia do sarampo e subsidios para a vacinação... Arq. Fac. Hig. (São Paulo) **17**: 135-204, 1963.

87. STOKES, J. *et alii* — Ender's live measles-virus vaccine with human immune globulin. I. Clinical reactions. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 366-372, 1962.
88. STOKES Jr., J., REILLY, C. M., HILLEMANN, M. R. e BUYNACK, E. B. — Use of living attenuated measles-virus vaccine in early infancy. *New Engl. J. Med.* **263**: 230-233, 1960.
89. TANEJA, P. N., GHAI, O. P. e BHAKOO, O. N. — Importance of measles to India. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 226-230, 1962.
90. TOYOSHIMA, K., *et alii* — Virological studies on measles virus: I. Isolation of measles virus using F. L. cells and immunological properties of the isolated agents. *Biken's. J.* **2**: 305-310, 1959.
91. UNITED NATIONS — Demographic yearbook, 1960. New York, 1960.
92. VERONESI, R — Informação pessoal, 1963.
93. VERONESI, R. *et alii* — Resultados preliminares de estudos clínicos e laboratoriais sobre a eficácia da vacinação contra o sarampo (vacina com vírus atenuados) em crianças de São Paulo. *Rev. Hosp. Clin.* **16**: 397-405, 1961.
94. WARREN, J. & GALLIAN, M. J. — Concentrated inactivated measles-virus vaccine. Preparation and antigenic potency. *Amer. J. Dis. Child.* **103**: 418-423, 1962.
95. WARREN, J. *et alii* — The canine distemper measles complex. I. Imune response of dogs to canine distemper and measles viruses. *Amer. J. Vet. Res.*, **21**: 111-118, 1960.
96. ZHDANOV, V. M. Medical importance of measles in U.S.S.R. *Amer. J. Dis Child.* **103**: 242, 1962.
97. ZHDANOV, V. M., e FADEEVA, L. L. — Problem of development of measles virus *Vop. Virusol.* **4**: 551-558, 1959.