

RAIVA DE LABORATÓRIO: ACIDENTE PÓS-VACINAL OCORRIDO EM FORTALEZA, CEARÁ, BRASIL, 1960*

DRS. MADUREIRA PARA,¹ WALDEMAR PASSOS,² E B. BEZERRA FILHO¹

O presente trabalho é um resumo das verificações feitas pelos autores durante a investigação de um surto de encefalomielite aguda e letal ocorrido em Fortaleza, capital do Estado do Ceará, Brasil, em novembro de 1960. A cidade de Fortaleza está situada no litoral, em zona tropical e na região Nordeste do país. Tem cerca de 400.000 habitantes. É ali densa a população canina.

A investigação foi iniciada no mesmo mês da ocorrência que aqui se estuda sob o duplo aspecto de análise dos dados do surto e das pesquisas de laboratório por nós realizadas no Instituto Oswaldo Cruz, para identificação de causa.

SURTO PÓS-VACINAL

Epidemiologia

Em fins de novembro de 1960, solicitou o Departamento Nacional de Saúde a co-operação do Instituto Oswaldo Cruz para apurar as causas de um surto de encefalomielite, altamente letal, que havia surgido em Fortaleza. A investigação foi confiada aos autores, que a ela se entregaram com a urgência que o caso exigia.

Ocorrência. Os dados então recebidos de Fortaleza indicavam que ali haviam aparecido vários casos de uma doença febril e paralisogena, com êxito letal rápido, entre pessoas submetidas a tratamento anti-rábico no posto de vacinação do Centro de Saúde Estadual daquela cidade.

Posteriormente, coligiram-se os dados seguintes:

* Trabalho apresentado à "Sociedade Brasileira de Microbiologia" Sessão de 1-11-1961, Rio de Janeiro, Brasil.

¹ Laboratório Padrão de Raiva, Divisão de Vírus, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

² Laboratório de Raiva, Instituto de Veterinária, Rio de Janeiro, Brasil.

Causa provável. Incriminava-se uma partida de vacina anti-rábica produzida no laboratório do Departamento Estadual de Saúde, do Ceará, pois a incidência dos casos só se constatava num grupo de 66 pessoas que com ela estavam sendo vacinadas. Ao todo foram conhecidos 18 casos, todos fatais, notificados de 11 a 24 do aludido mês de novembro.

Vacina suspeita. O laboratório produtor, que se encontrava mal aparelhado para essa espécie de trabalho, havia trocado, precisamente na fabricação da partida incriminada, a amostra de vírus fixo que vinha empregando por outra recebida do Instituto de Biologia Animal (I. B. A.) do Ministério de Agricultura, Seção de Recife, Estado de Pernambuco.

Na Diretoria do Instituto de Biologia Animal do Rio de Janeiro, puderam os autores apurar que a amostra enviada ao Laboratório do Departamento Estadual de Saúde Pública do Ceará era, na realidade, originária do vírus fixo Pasteur, de Paris, mantida no Instituto havia vários anos e ali empregada na preparação de vacina anti-rábica veterinária.

A vacina do laboratório estadual apontada como causadora do surto fôra preparada com cérebro de carneiros que apresentaram sintomas típicos de raiva depois da inoculação com a amostra acima referida. A suspensão de cérebros tinha sido tratada com fenol a 0,5%, homogenizada em liquidificador e diluída até a concentração final de 5% de substância nervosa. Depois de passar 6 dias à *temperatura ambiente* e ter sido submetida às provas de esterilidade bacteriológica, com resultado satisfatório, e de inocuidade, feita num único coelho e numa única cobaia, *fôra entregue para uso humano imediato*, na data de 4 de novembro de 1960.

Apurou-se mais tarde que o laboratório

em aprêço não estava em condições de realizar as provas de potência e de inocuidade necessárias à liberação de vacina de vírus inativados destinada a uso humano.

Correlação entre a doença e a exposição à raiva ou à vacina. Os dados epidemiológicos do surto encontram-se nas Tabelas 1 e 2. Por insuficientes e pouco seguras as informações que o Departamento Estadual de Saúde pôde prestar, sua análise carece do desejado valor estatístico.

Foi registrado um total de 18 casos da doença, sempre fatais e apenas entre pessoas que recebiam tratamento anti-rábico por haverem estado expostas à mordedura de cães tidos como infectados. Dêsse total, verificou-se que em 5 casos o animal se achava de fato raivoso; que em 6 outros restou apenas suspeita; e que nos 7 restantes o animal se encontrava sadio. As vítimas estavam sendo tratadas com uma injeção subcutânea ou intramuscular de vacina, diariamente ou em dias alternados. Conquanto a dose recomendada de vacina fosse de 2 ml, há dúvida quanto ao volume de vacina realmente administrado em cada dose. A vacina suspeita foi empregada pela primeira vez em 5 de novembro e o primeiro caso da doença manifestou-se em 11 do mesmo mês, isto é, seis dias após. Verificaram-se 14 casos entre pacientes que haviam recebido três ou mais doses da vacina e 4 entre os que estavam em fase menos avançada do tratamento. Este tivera

início no mesmo dia da exposição, ou no dia seguinte, em 9 casos; e mais tarde nos demais. O período de incubação da doença, contado da data da primeira administração da vacina, variou entre 4 e 13 dias e deu a média de 8 dias, prazo demasiado curto para se admitir a possibilidade de raiva de rua. No tocante à distribuição por sexo e idade, observa-se o equilíbrio entre os dois sexos e que 10 casos se verificaram entre menores de 20 anos.

Quadro Clínico.

Embora fragmentários, os dados que os autores conseguiram colher permitem compor um quadro clínico (ver Tabela 2) da sintomatologia e evolução dos dezoito casos, graças às semelhanças flagrantes que os unem. A duração da doença foi de 2 a 9 dias e, em média, de 5 dias. Pelo menos na maioria dos casos, observou-se uma fase prodrômica nítida, embora curta (horas ou um ou dois dias, no máximo), durante a qual o doente se queixava de mal-estar geral, cefaléia, raquialgia (sobretudo na região cervical) e mialgias mal definidas. Sobrevinha a fase aguda, com febre alta e contínua, cefaléia muito intensa, paresias e espasmos musculares, convulsões, disfagia e diplopia; vômitos frequentes, em projétil; cessadas a agitação e as convulsões, paralisia (sobre tudo paraplegia dos membros inferiores), ansiedade com sensação de morte iminente, abalos musculares e incoordenação motora, disp-

TABELA 1.—Dados gerais sobre a vacina causal e o surto provocado, Fortaleza, Ceará, novembro 1960.

Vacina responsável pelo acidente	Surto provocado
<i>Principais Características</i>	<i>Ocorrência</i>
Tipo—Fermi (fenolada 0,5%)	Incidência—só em pessoas vacinadas
Preparada de—cérebros de carneiros	Total vacinados com a Vacina Suspeita (cidade de Fortaleza)—66 pessoas
Fabricada com—vírus rábico fixo (Pasteur ?)—original do I.B.A., Recife, Pernamkuco	Total de casos—18
Entregue para uso—nov. 4, 1960	Morbidade—27,3% entre vacinados
Provas de potência e de inocuidade (OMS)—não realizadas	Letalidade—100% dos casos
	Doença produzida—Encefalomielite aguda (febril e paralitígena—Mortal)
	Período Epidêmico (datas início do 1° e do 18° casos)—11 a 24.11.60

TABELA 2.—Análise dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais do surto, Fortaleza, Ceará, novembro 1960.

Distribuição dos casos

Total	Doses de vacina aplicadas		Tempo entre mordida e vacinação		Período de incubação pós-vacinal	Tempo de doença	Sexo	Idade (anos)	Animal mordedor Cão
	Doses	Casos	Dias	Casos					
18	1	2	0	5	4-13 dias Média: 8 dias	2-9 dias Média: 5 dias	F. 9 casos M. 9 "	0-9: 5 casos 10-19: 5 " 20-29: 4 " +30: 4 "	Raivoso: 5 casos Suspeito: 6 casos Sadio: 7 casos
	2	2	1	4					
	3-5	7	2	2					
	6-10	7	3	5					
			4	1					
			8	1					

Encefalomielite pós-vacinal

Sintomas cardinais (Frequência em 18 casos)						Patologia (3 casos humanos)	
Febre	Paralisia	Cefaléia	Vômitos	Incoor-denação muscular	Torpor ou coma	Lesões do SNC	Vírus no SNC
	14 (agitação em 6 casos)	16	12	13	9	<i>Cérebro e cerebelo</i> Perivascularite Congestão Focos de neuronólise Cromatólise, neuronofagia, satelitose e gliose Ausência de corpúsculos de Negri <i>Medula</i> Panmielite aguda de caráter poliomiéltico dominante	<i>Raiva</i> —Vírus fixo (isolado de 3 casos fatais—total recebido) Todas as 3 cepas produzem raiva parali-tica típica em animais de laboratório

néia intensa, salivação abundante e incontínência urinária; e, só tardiamente, obnubilação mental, logo seguida de torpor, coma e morte.

Segue-se a reconstituição pormenorizada de cada caso, baseada em dados coligidos pelo Dr. Walter Pôrto, então Chefe do Centro de Saúde de Fortaleza, a quem os autores agradecem, penhorados:

HISTÓRIA DOS CASOS FATAIS

Caso 1. M. C. B. S., fem., branca, 62 anos de idade. Mordida a 4-11-60 por cão um sadio (animal vivo e normal mais de um mês após a agressão), na face posterior da coxa direita. Primeira dose de vacina anti-rábica no dia 5, seguida,

em dias alternados, de mais 4 doses. A 11, data da última dose de vacina que tomou, apresentou-se com cefaléia intensa, febre, convulsões e vômitos, sendo hospitalizada. Seu estado foi-se paulatinamente agravando e a 16 apresentava raquialgia intensa na região cervical, dor nos globos oculares, vômitos freqüentes, a jato, dispnéia intensa, angústia e ansiedade. A 17, manifestou-se disfagia, paralisia dos membros superiores e insônia. A 18, fêz-se punção lombar: o líquido hipertenso e turvo, com pleiocitose de 2.000 células. À tarde desse mesmo dia, torpor, seguido de coma. Morte a 19.

Case 2. D. B. C., fem., parda, 20 anos de idade. Mordida a 7-11-60, na mão esquerda, por um cão suspeito de raiva, embora vacinado (o animal não pôde ser encontrado). Tomou uma

TABELA 3.—Cépas de vírus isoladas—Características biológicas, Fortaleza, Ceará, novembro 1960.

Amostra de	Isolada de	Patogenicidade			Patologia		Imunidade			
		Para	Doença expm.	LD ₅₀ ¹	Lesões	Negri	HML ²	HTL ³	Sêro-Neut. Neutralização ⁴	RFC
A. G. H. A. H. 3	Cérebro ou Cerebelo (caso humano fatal)	cam. suíço coelho cobaia	raiva parálitica*	10 ^{-5 0} a 10 ^{-7 0}	Encefalomielite por vírus fixo	Negativo	± + ±	+ + +	Positiva	+
M. J. ARE	Vacina suspeita (de frasco em uso na vacinação ou rec. Lab. D.E.S.—Ceará)	Idem	Idem*	Idem	Idem	Negativo	+ ±	± +	Positiva	+
Ce. 1	Cérebro Carneiro (prep. vac. fatídica)	Idem	Idem*	Idem	Idem	Negativo	+ ±	±	Positiva	+
Co. 2024	Cérebro coelho (original)Cecêpa IBA—Recife, Pernambuco	Idem	Idem*	Idem	Idem	Negativo	+ ±	±	Positiva	+

¹ Camundongos suíços, 30 dias de idade, inoculação intra-cerebral.

² Homóloga.

³ Heteróloga.

⁴ Usou-se "sêro anti-rábico hiperimune", de estoque.

* Em coelho albino, pesando ca. 2k, via intra-cerebral, o período de incubação é de 5-8 dias.

única dose de vacina anti-rábica no dia 10. Apresentou-se febril uma semana mais tarde, com cefaléia, vômitos, vertigem e paresia dos membros inferiores. Morte a 18. A necropsia revelou úlcera gástrica perfurada e sinais de encefalite aguda. No Instituto Oswaldo Cruz recebemos material do SNC deste caso e dele isolamos vírus da raiva (amostra "H.A."). O exame microscópico revelou lesões do cérebro, cerebelo e medula dorsal: congestão acentuada e degeneração neurônica em focos reacionais (cromatólise, neuronólise, neuronofagia e satelitose); comprometimento das células de Purkinje, no cerebelo; ausência de exudato leucocitário; e plexo coróide normal. Não foram encontrados corpúsculos de Negri. Ditas lesões formam quadro compatível com o diagnóstico de encefalomielite rábica do homem, por vírus fixo.

Caso 3. G. S. R., masc., 35 anos. Mordido a 6-11-60, por um cão suspeito. Vacinação anti-rábica iniciada no dia seguinte; tomou ao todo nove doses (2 ml, via subcutânea), em dias con-

secutivos. A 16, apresentou cefaléia intensa e febre; a 17, acentuaram-se tais sintomas e surgiu paresia das pernas; a 18, manifestou-se paralisia dos membros inferiores e retenção de fezes e urina; a 19, paraplegia e disfagia; e na noite de 20, morte.

Caso 4. M. J., masc., branco, 4 anos. Mordido a 8-11-60, por um cão suspeito. Vacinação anti-rábica iniciada no mesmo dia; a 10, recebeu a segunda dose; a 12, o tratamento foi suspenso, por se considerar que o animal estava sadio, suposição que no prazo próprio se mostrou correta; a 16, apresentou febre, cefaléia, paresia das pernas e espasmo dos esfíncteres anal e vesical; a 17, sudorese intensa e apirexia; a 18, febre alta (40°C a 41°C), acompanhada de vômitos, sede intensa, disfagia, convulsões e paralisia flácida dos membros inferiores; a 19, foi hospitalizado, com os mesmos sintomas, acompanhados de retenção da urina e abalos mioclônicos dos membros superiores; a 20, rigidez da nuca e hipertonia dos membros superiores em flexão,

sobrevindo, à tarde, perda da lucidez e coma; e a 21, morte.

Caso 5. J. F. S., masc., pardo, 13 anos. Mordido a 10-11-60 na face posterior da coxa esquerda, por um cão suspeito, de destino ignorado. A 14, tomou a primeira dose da vacina; a 15, 16 e 17, mais três doses; a 20, pela tarde, apresentou cefaléia intensa e calafrios; a 21,

amanheceu agitado, com sialorréia abundante, obnubilação e crises convulsivas freqüentes; a 22, o mesmo quadro clínico, agravado por febre, estrabismo e paresia dos membros inferiores e maior agitação. Morreu nesse mesmo dia.

Caso 6. A. G., fem., parda, 32 anos. Mordida a 8-11-60, superficialmente, no tornozelo esquerdo, por um cão que posteriormente se revelou sadio.

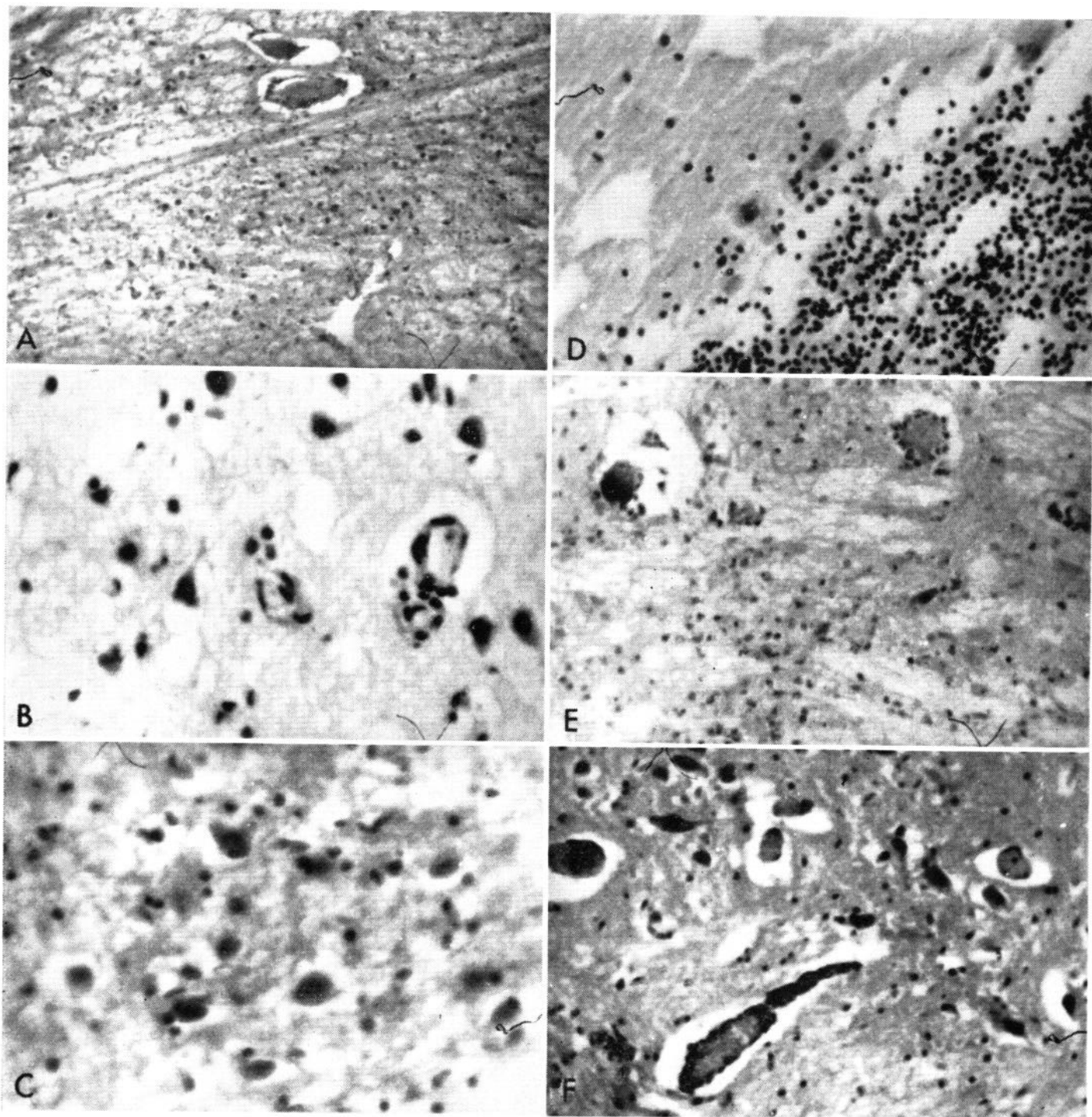


FIG. 1

A. Cérebro (Caso F. H. A., No. 8)—Vista panorâmica das lesões degenerativas de neurônios, acompanhada de gliose e perivascularite (Giemsa, $\times 100$). B. Cérebro (Caso D. B. C., No. 2)—Motoneurônios em neuronólise e cromatólise. Gliose difusa e perivascularite (Mayer, $\times 600$). C. Cérebro (Caso D. B. C., No. 2)—Área de intensa degeneração neurônica, com figuras típicas de satelitose e neuronofagia (Gliose) (H.E., $\times 600$). D. Cerebelo (Caso A. G., No. 6)—Vêm-se células de Purkinje em degeneração, com cromatólise e neuronólise (H.E., $\times 300$). E. Protuberância (Caso D. B. C., No. 2)—Lesões intensas inflamatório-necróticas com congestão e perivascularite (H.E., $\times 100$). F. Medula Cervical (Caso A. G., No. 6)—Grupo de motoneurônios degenerados. Congestão vascular e perivascularite (H.E., $\times 100$).

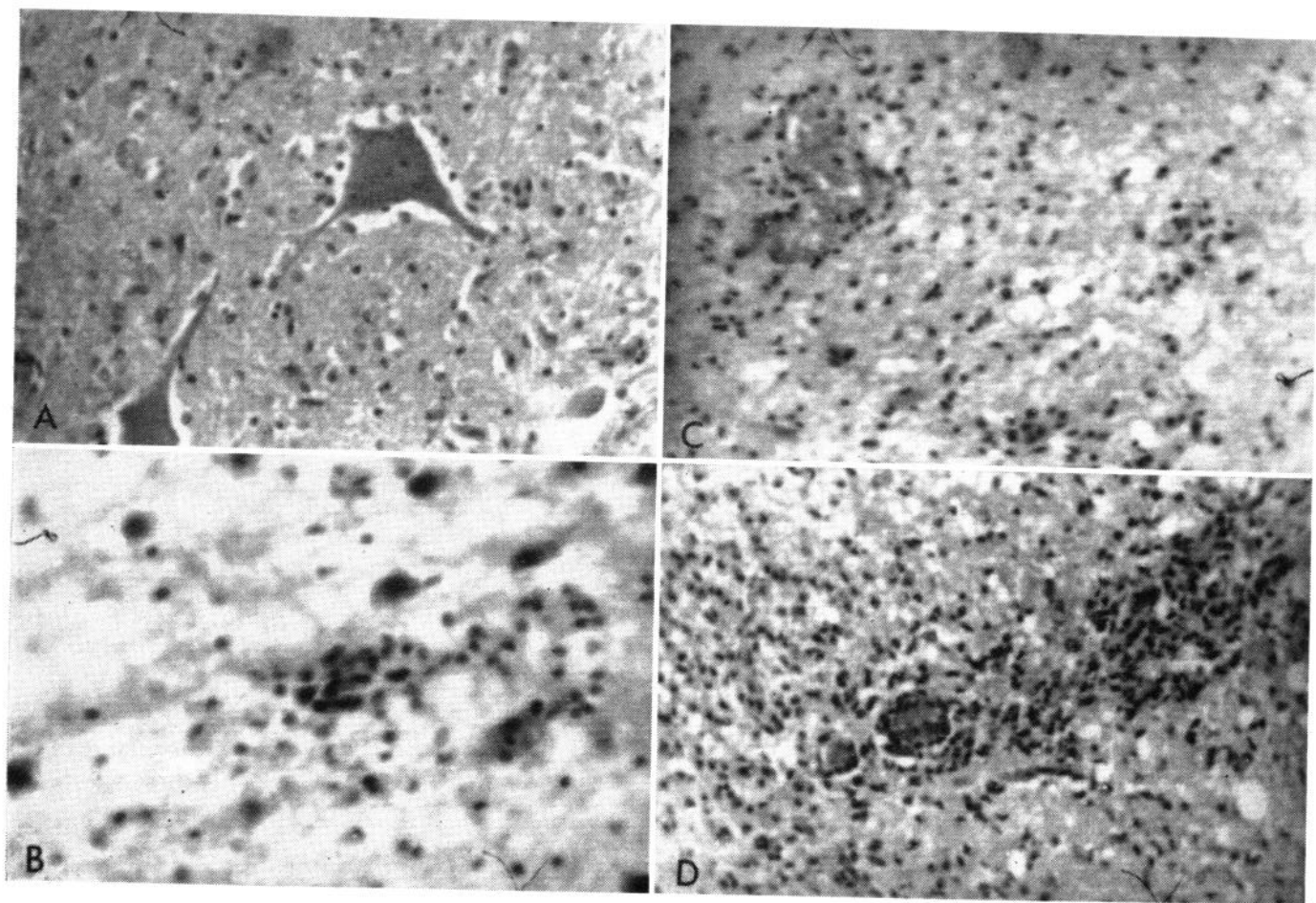


FIG. 2

A. *Medula Cervical* (Caso A. G., No. 6)—Intensa gliose difusa. Motoneurônios em degeneração; ou em satelitose e do canto esquerdo inferior, em franca neuronólise (H.E., $\times 300$). B. *Cérebro de Cobiáia* (inoculada com a amostra de vírus "AG")—Intensa degeneração neurônica a par de gliose focal (vê-se um "Nódulo de Babes" típico ao centro da figura) (H.E., $\times 300$). C. *Cérebro de Cobiáia* (inoculada com a amostra de vírus "AG")—Perivascularite, congestão e gliose difusa intensa (H.E., $\times 300$). D. *Cérebro de Coelho* (inoculado com a amostra de vírus "H.A.")—Nota-se intensa congestão, perivascularite, degeneração neurônica e microgliose focal (Babes) (H.E., $\times 300$).

A 11, 13, 15 e 17, recebeu suas quatro primeiras doses (2 ml, via subcutânea) da vacina; a 19, apresentou cefaléia intensa, febre e raquialgia, sobretudo na região cervical; a 20, agravaram-se os sintomas; a 21, foi hospitalizada, apresentando vômitos em projétil, cefaléia intensa, mialgia generalizada, opistótono, obnubilação e salivação abundante; a 22, o mesmo quadro clínico, mais incontinência urinária, abalos musculares e, finalmente, coma. A 23, morte. Foi enviado ao Laboratório do Instituto Oswaldo Cruz material do SNC, em glicerina e em formol; isolou-se vírus fixo da raiva (amostra "AG") e encontraram-se lesões de encefalomyelite aguda compatíveis com essa etiologia.

Caso 7. D. L. C., fem., 10 anos. Mordida a 11-11-60, no lado esquerdo da face, por um cão raivoso. Vacinação iniciada nessa mesma data; a 13, 15, 17 e 21, mais quatro doses (2 ml via subcutânea) da vacina; a 23, apresentou-se febril; a 24, além da febre ($39,5^{\circ}\text{C}$), vômitos e

raquialgia na região cervical; e a 28 perda da lucidez, coma e morte.

Caso 8. F. H. A., masc., branco, 11 anos. Mordido a 5-11-60, por um cão que posteriormente se revelou sadio. Vacinação iniciada a 8; a 10, 14, 16 e 20, mais quatro doses (2 ml via subcutânea) da vacina; ainda a 20, apresentou raquialgia, sobretudo da região cervical, e ligeira paresia nas pernas; a 21, vômitos, febre, paralisia nos membros inferiores, incontinência urinária, agitação intensa e tremores; a 23, foi hospitalizado, com rigidez da nuca, convulsões freqüentes, opistótono, dispnéia e febre (38°C); a 24, o mesmo quadro, agravado por obnubilação e coma. Morte nesse mesmo dia. O Laboratório do Instituto Oswaldo Cruz recebeu material do cérebro e cerebelo em glicerina e em formol; isolou-se vírus fixo de raiva (amostra "H.3") e encontraram-se lesões de encefalite compatíveis com essa etiologia.

Caso 9. M. I. S., fem., parda, 25 anos. Mordida a 11-11-60 na face lateral direita e inferior do tórax, por um cão suspeito. Vacinação iniciada no dia seguinte; a 14, 15 e 16, recebeu mais três doses da vacina; ainda a 16, apresentou raquialgia da região cervical; a 17, cefaléia intensa, acompanhada de febre, vômitos e paresia dos membros inferiores; a 18, 19 e 20, o mesmo quadro clínico, agravando-se progressivamente; a 21, rigidez da nuca, opistótono, hemiplegia direita, *facies* de pavor, exoftalmia e obnubilação; a 22, os sintomas descritos, convulsões clônicas frequentes e coma. Morreu a 24.

Caso 10. J. E. D. B., masc., branco, 13 anos. Escoriação no cotovelo esquerdo lambida, a 11-11-60, por um cão rábido (o animal mordeu outras pessoas e foi eliminado). Vacinação iniciada no dia seguinte; a 14, 16, 18 e 20, recebeu mais quatro doses da vacina; ainda a 20, apresentou cefaléia intensa, vômitos em projétil, dispnéia e paralisia das pernas; a 21 e 22, o mesmo quadro clínico, agravando-se progressivamente; a 23, sem perda da lucidez, febre (38°C), dispnéia, sialorréia, hipertonia espástica do braço esquerdo, disfagia, espasmo dos esfínteres anal e vesical, convulsões e opistótono; a 24, paraplegia dos membros inferiores e hipostenia dos superiores. Morte, em coma, a 25.

Caso 11. R. R. B., masc., pardo, 48 anos. Mordido a 12-11-60, na perna esquerda, por um cão rábido. Tomou uma só dose da vacina e no mesmo dia. A 21, apresentou cefaléia, raquialgia na região cervical, mialgia e paresia dos membros inferiores; agravaram-se os sintomas; a 25, foi hospitalizado com convulsões clônicas, febre (38°C), sialorréia intensa e *facies* de ansiedade, incoordenação motora, disartria, rigidez da nuca, opistótono, rigidez do tronco e contratura dos membros inferiores; falava com dificuldade mas conservava-se lúcido, embora angustiado. Morreu nesse mesmo dia.

Caso 12. G. F. P., fem., parda, 27 anos. Mordida a 14-11-60, na mão esquerda, por um cão que posteriormente se revelou sadio. Vacinação iniciada a 17; a 18, 19, 20, 21 e 22, mais cinco doses (2 ml. via subcutânea) da vacina; a 23, apresentou cefaléia; a 24, cefaléia violenta, raquialgia na região cervical, vômitos em projétil, dispnéia, agitação e paresia dos membros inferiores. Morte a 25.

Caso 13. M. C. A., fem, parda, 24 anos. Mordida a 8-11-60, superficialmente, no pé esquerdo,

por um cão que posteriormente se revelou sadio. A partir de 10, tomou, diariamente, o total de 9 doses (2 ml. via subcutânea) da vacina; a 22, apresentou cefaléia intensa, raquialgia na região cervical, febre, diplopia e paresia dos membros inferiores; a 23, agravaram-se os sintomas; a 24, foi hospitalizada, ainda lúcida, mas com cefaléia intensa, congestão conjuntival, mialgia generalizada, abalos musculares frequentes, convulsões clônicas, sialorréia abundante, dispnéia, *facies* de pavor e, finalmente, obnubilação. Morte a 25, em coma.

Caso 14. F. C. C., masc., branco, 5 anos. Mordido a 15-11-60, na mão direita, por um cão suspeito, de destino ignorado. Tomou a primeira dose da vacina a 16; e mais 7 doses, diariamente, até 23; nesse dia, apresentou cefaléia, febre e vômitos, quadro clínico que se agravou progressivamente; a 26, sobreveio estrabismo convergente, rigidez muscular generalizada, convulsões, dispnéia, sialorréia e febre. Morte nesse mesmo dia.

Caso 15. J. B. V., masc., pardo, 11 anos. Este foi o único caso que não se registrou em Fortaleza, mas no município de Anacetaba, vizinho àquela cidade. Mordido a 16-11-60 por um cão suspeito. Vacinação iniciada no mesmo dia; a 17, 18, 19, 20, 21 e 22, recebeu mais seis doses (2 ml. via subcutânea) da vacina; a 22 apresentou forte cefaléia, febre alta, convulsões e paralisia dos membros superiores, iniciada no braço em que havia recebido a sétima dose da vacina; o quadro clínico foi-se agravando progressivamente, até 26, quando sobreveio a morte.

Caso 16. E. R. S., fem., 5 anos. Mordida a 6-11-60, no pé esquerdo, por um cão provavelmente raivoso. Vacinação iniciada a 14; tomou ao todo nove doses (2 ml., via subcutânea) da vacina, em dias consecutivos; a 24, apresentou cefaléia e febre; a 25, os mesmos sintomas e rigidez da nuca, séde intensa e vômitos em projétil; a 26, os mesmos sintomas, agravados por cefaléia mais intensa (temperatura de 39,5°C) convulsões clônicas e, à tarde, obnubilação, sonolência e dispnéia, sendo hospitalizada com hipertermia (41,3°C). Morte a 27.

Caso 17. T. F., fem., branca, 6 anos. Mordida a 17-11-60, na região pubiana, por um cão suspeito. Nesse mesmo dia, tomou soro anti-tetânico e a primeira dose da vacina; a 19, mais uma dose, interrompendo-se aí a vacinação. História clínica desconhecida. O óbito ocorreu a 28.

Caso 18. A. C. P., masc., branco, 1 ano. Mordido a 14-11-60, superficialmente, na cabeça e na mão direita, por um cão que se revelou, depois, sadio. Vacinação iniciada a 17; tomou mais cinco doses, em dias consecutivos; a 24, dois dias após a última dose, apresentou febre, vômitos, convulsões, incoordenação motora e insônia, quadro clínico que se agravou lentamente, nos dias subseqüentes; a 28, foi hospitalizado, com febre de 40°C, rigidez da nuca, reflexos tendinosos exaltados, hipertonia dos membros inferiores, disfagia, inapetência, sialorréia e inquietude; nos dias seguintes, os sintomas agravaram-se rapidamente e sobreveio etenção de urina e de fezes. Morreu no dia 2.

PESQUISAS DE LABORATÓRIO

Os autores receberam de Fortaleza, para a pesquisa etiológica do surto de encefalomielite, o seguinte material: espécimes de cérebro e cerebelo de três casos; espécime de protuberância e medula cervical de um desses casos; material desses mesmos casos, fixado em solução de formol a 10% em sôro fisiológico; 4 frascos originais da vacina suspeita; espécimes dos cérebros de carneiros que lhe deram origem; e espécimes do cérebro de coelho utilizado em passagens da amostra original do vírus do I.B.A.

As pesquisas dirigiram-se, portanto, no sentido de esclarecer a patologia da doença e de isolar o possível agente causal.

Patologia

De tôdas as amostras dos três casos em apêço (casos DBG, AG e FHA), foram examinadas, em blocos de parafina, diversas preparações coradas pela hematoxilina-eosina, Giemsa, Mann, Theiler e Mayer.

Dada a perfeita identidade das lesões encontradas (verificaram-se apenas diferenças de grau de comprometimento), faz-se aqui uma descrição conjunta do quadro histopatológico (ver tabela 2).

Cérebro e protuberância. Congestão e perivascularite. Focos de desintegração neuronal, com cromatólise, neuronólise, satelitose, neuronofagia e gliose, de intensidade e extensão variáveis. Ausência de corpúsculos de Negri.

Cerebelo. Discreta reação inflamatória do tipo linfocitário, envolvendo a camada de células de Purkinje, e, às vezes, sinais de degeneração neurônica. Ausência de corpúsculos de Negri.

Medula. Lesões degenerativo-inflamatórias de panmielite, de caráter poliomiélico dominante. Ausência de corpúsculos de Negri.

Em seu conjunto, o quadro mórbido achado no SNC das vítimas do surto é o de uma encefalomielite aguda, veementemente sugestivo daquela produzida pela raiva por vírus fixo, no homem (Figs. 1 a 7).

Etiologia

Inoculação. Do material de SNC humano recebido em glicerina e à baixa temperatura, já referido, foram feitas provas bacteriológicas, com resultado *negativo*. As amostras de vacina recebidas revelaram-se, também, bacteriológicamente estéreis.

Numa tentativa de isolar algum vírus neurotrópico, inocularam-se em camundongos suíços adultos (21-30 dias de idade), camundongos recém-nascidos (0 dia de idade), cobaias brancas jovens (cêrca de 300 gramas de pêso) e coelhos albinos (cêrca de 2 quilos de pêso), por via intracerebral, subcutânea, intramuscular ou intradérmica, suspensões de tecido nervoso do material recebido, homogenizadas (1:2 e 1:10^{-1.0}) no diluente habitual (10% de sôro de coelho normal em solução fisiológica) e centrifugadas.

Foram igualmente inoculadas, embora em concentrações menores (5.10⁻¹ a 1.10⁻³), suspensões da vacina suspeita (obtida da embalagem original), de cérebro de carneiro, e da amostra de vírus fixo (em cérebro de coelho) utilizada na preparação da vacina.

Isolamento de vírus. Quase todos os animais inoculados apresentaram o quadro típico da raiva paralítica. Os camundongos adoeciam cinco dias depois da inoculação e morriam paralíticos, geralmente, nos cinco dias seguintes; e os coelhos e as cobaias, via de regra, ao sexto dia, morrendo 48

horas depois, com paralisia geral, porém iniciada e mais pronunciada no trem posterior.

Foram, assim, isoladas as seguintes amostras de vírus: de casos humanos: AG, H.A. e H.3; de vacina suspeita: MJ e ARE; de cérebro de carneiro (orig.): Ce.1; de material-semente (coelho): Co. 2024.

Tôdas as amostras de vírus isoladas tiveram comportamento idêntico nas experiências, com pequenas variações (ver Tabela 3). Assim é que:

1) Revelaram patogenicidade ubíqua para animais de laboratório.

2) Produziram raiva parálitica mortal, com período de incubação curto (5-8 dias), quando inoculadas em animais de laboratório.

3) No processo de isolamento, mostraram um LD₅₀ de 10⁻⁵ a 10⁻⁷, em camundongo.

4) A anebrigênese foi constante.

Patologia experimental. A pesquisa sistemática dos corpúsculos de Negri, pelo método de Sellers, em esfregaços de cérebro (córtex), cerebelo, corno de Ammon, quiasma óptico e tubérculos quadrigêmeos dos animais inoculados, fôsem camundongos, coelhos ou cobaias, deu sempre resultado negativo. Do ponto de vista histopatológico, a doença experimentalmente transmitida aos animais de laboratório utilizados pode ser diagnosticada como raiva por vírus fixo, visto que tampouco em material dos mesmos se acharam corpúsculos de Negri. Além disso, a presença de focos bem delimitados de gliose, identificados como nódulos de Babes, no SNC de coelhos e cobaias, com relativa freqüência, define o diagnóstico de raiva experimental por vírus fixo (Figs. 8, 9 e 10).

Identificação imunológica. Para comprovação final da identidade das amostras de vírus isoladas, fizeram-se as seguintes provas:

1) *Sêro-neutralização.* Esta prova foi realizada segundo a técnica recomendada pelos peritos da OMS e com auxílio de um sêro anti-rábico hiperimune (preparado com amostra de vírus fixo conhecida e que há

anos vem sendo empregada como vírus-semente no fabrico de vacina anti-rábica para uso humano ou veterinário.).

Ficou positivado que tôdas as amostras isoladas eram de vírus da raiva, pois o menor índice de neutralização encontrado foi superior a 100 LD₅₀.

2) *Fixação de complemento.* A especificidade rábica de tôdas as amostras submetidas à prova foi revelada pela RFC para as amostras isoladas e o vírus de referência como contrôle; usaram-se antígenos obtidos de cérebro de camundongos moribundos e de camundongos normais, para contrôle negativo. Na preparação dos antígenos, utilizou-se técnica semelhante a de Hammon e España.

3) *Imunidade cruzada.* Em provas de imunidade cruzada efetuadas segundo a técnica recomendada por Habel, ficou positivado que as amostras de vírus AG, H.3 e ARE tinham menor antigenicidade homóloga do que heteróloga; as de vírus MJ, Co. 2024 e Ce.1, pelo contrário, menor a heteróloga do que a homóloga; e as do vírus H.A., maior capacidade antigênica que as demais, tanto homóloga quanto heteróloga.

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Entre 11 e 24 de novembro de 1960 registrou-se em Fortaleza, capital do Estado do Ceará, Brasil, um surto de dezoito casos fatais de encefalomielite aguda, num grupo de sessenta e seis pessoas que receberam uma ou mais doses de vacina como tratamento preventivo da raiva, iniciado quase logo após o ataque de cão suspeito. A investigação dos dezoito óbitos revelou que somente em cinco casos o animal responsável se achava, positivamente, infectado; em seis casos permaneceu apenas a suspeita; e nos sete restantes verificou-se que se tratava de animal sadio. Contado da administração da primeira dose de vacina, o período de incubação da doença foi, em média, de 8 dias.

Os aspectos clínicos e epidemiológicos da ocorrência incriminam, fortemente, a vacina

empregada. Esta fôra preparada pelo Laboratório Estadual da Saúde Pública, segundo técnica de Fermi, com cérebros de carneiros inoculados por via intracerebral com vírus de raiva fixo. Não foram seguidos no seu preparo os padrões internacionais de potência e inocuidade para vacinas de vírus inativado.

Os autores do presente trabalho examinaram material do SNC de três casos, conservado em glicerina e em formol; amostras da vacina incriminada, na sua embalagem original; amostra do vírus-semente e material dos cérebros de carneiro utilizados na fabricação da vacina.

Formularam-se diversas hipóteses de trabalho sôbre a etiologia do surto, dentre as quais se destacaram, como mais plausíveis, as seguintes: raiva por vírus fixo; raiva muda, de transmissão desmódina; acidentes neuroparalíticos pós-vacinais; e encefalite por outro vírus neurotrópico, conhecido ou não, que tivesse contaminado acidentalmente a vacina.

A análise dos dados epidemiológicos e das características clínicas do surto—ausência absoluta de casos secundários, morbidade elevada (27,3%), letalidade de 100%, a alta incidência de formas paréticas ou paralíticas entre os casos declarados—levaram-nos, porém, a pensar, desde logo, em raiva de laboratório, no sentido dado por Remlinger (1, 2).

Os achados histopatológicos que o exame do SNC dos três casos proporcionou e a patologia experimental efetuada em animais de laboratório reforçaram a hipótese de encefalomielite por vírus de raiva fixo. A absoluta ausência de corpúsculos de Negri em todo o material examinado (anegrigênese) constituía, por si só, indício dessa origem. A suposição ficou definitivamente confirmada quando os autores conseguiram isolar, do material dos casos humanos e da amostra da

vacina empregada, diversas amostras de vírus fixo de raiva aparentemente idênticas entre si e caracterizadas pelo comportamento biológico e patogênico clássico. As provas de sôro-neutralização, de fixação do complemento e de imunidade cruzada serviram de fundamento à identificação do vírus isolado.

Não cabe discutir aqui a virulência do vírus pasteuriano fixo, nem sua periculosidade para o homem. Remlinger (1, 2 y 3), e Remlinger e Bailly, do Instituto Pasteur de Tanger, provaram, magistralmente, êsses fatos. Segundo êsses dois autores, mesmo por via subcutânea “a brutalidade da injeção, que dilacera filetes nervosos e permite ao cilindro-eixo banhar-se em emulsão virulenta . . . desempenha, também, papel etiológico” (4).

Questão nova e digna de minucioso estudo, que os autores pretendem empreender, é a de saber se a capacidade imunizante das vacinas anti-rábicas consideradas “de vírus inativado” não estará condicionada à presença, sempre possível, de vírus vivo residual. Os trabalhos de Gard (5) e de Schultz, Rightsel, Timm e outros (6), sôbre a dinâmica da inativação do vírus da poliomielite em formol, fazem pensar nessa possibilidade.

A técnica da preparação da vacina responsável pelo surto tipo Fermi deixou muito a desejar. O processo de inativação foi deficiente e mal controlado, como ficou comprovado pela presença do vírus vivo fixo, mesmo em diluições altas: 1.10^{-3} . Tratava-se, portanto, de vacina virulenta, imprópria para uso.

O acidente ocorrido em Fortaleza poderá repetir-se onde quer que haja laboratórios oficiais ou particulares produzindo vacina anti-rábica sem a observância estrita dos requisitos mínimos de segurança em sua fabricação.

RABIA DE LABORATORIO: ACCIDENTE POSTVACUNAL EN FORTALEZA, CEARÁ, BRASIL (*Resumen*)

Del 11 al 24 de noviembre de 1960 se registró en Fortaleza, Estado de Ceará, Brasil, un brote agudo y letal de encefalomiélitis en personas mordidas por perros y que habían sido sometidas, casi inmediatamente después de la mordedura, a un tratamiento preventivo contra la rabia.

La vacuna utilizada había sido preparada en Fortaleza, de acuerdo con la técnica de Fermi, por el Laboratorio del Servicio de Salud Pública local, con virus rábico fijo obtenido del cerebro de ovejas inoculadas por vía intracerebral. La vacuna no había sido sometida a las pruebas adecuadas de actividad e inocuidad que se requieren normalmente en el caso de vacunas de virus inactivado.

Se registraron en total 18 casos fatales de encefalitis en un grupo de 66 personas que habían sido inoculadas con una o más dosis de la vacuna que era a la que se atribuía el brote, por sus características clínicas y epidemiológicas.

El período medio de incubación, computado desde la primera dosis de vacuna, fue de ocho días.

Sólo en cinco de los 18 casos se comprobó que el perro mordedor padecía de rabia. En otros seis casos, en que no se conocían los antecedentes de los perros mordedores, los animales fueron clasificados como sospechosos, y en los siete casos restantes los perros no presentaron síntoma alguno de la enfermedad.

Se sometió a examen material del sistema nervioso central que se había obtenido de tres casos humanos y mantenido en parte en glicerol y en parte en formalina, así como la vacuna sospechosa en los frascos originales. También se estudió la cepa de pase en conejo del virus fijo y el material cerebral bovino usado en la preparación del lote de vacunas al que se atribuía el brote.

Se podrían sugerir varias hipótesis acerca de la causa del brote. Entre las más plausibles cabe mencionar las siguientes: rabia de virus fijo, rabia muda transmitida por murciélagos *Desmodus*; accidentes neuroparalíticos postvacunales; y otro virus neurotrópico (de tipo conocido o desconocido) que pudiera haberse introducido accidentalmente en la vacuna. Sin embargo, del análisis de los datos epidemiológicos, las características clínicas de la enfermedad en

la epidemia, la ausencia de casos en personas no vacunadas, la elevada tasa de ataque entre los vacunados (27,3%), la tasa de mortalidad de 100% y la alta frecuencia de formas paréticas y paralizantes de la enfermedad entre los casos, nos indujeron a creer en la primera fase del estudio que se trataba de la "rabia de laboratorio", descrita por Remlinger (1, 2).

El aislamiento de virus rábico cerebral y los hallazgos histopatológicos en el tejido del sistema nervioso central de los tres casos objeto de estudio, además de la patología registrada en los animales inoculados, vino a corroborar la hipótesis de encefalomiélitis por virus rábico fijo. La ausencia constante de corpúsculos de Negri en toda la materia sometida a estudio (anegrigenesis), constituyó en sí otra prueba presuntiva de virus rábico fijo.

Los siguientes datos epidemiológicos y experimentales confirman en forma concluyente que el brote de encefalomiélitis postvacunal, en Fortaleza, se debió a virus rábico de laboratorio. A continuación se resumen sus características fundamentales:

- 1) Período de incubación compatible;
- 2) Sintomatología de una encefalomiélitis paralizante aguda y típica;
- 3) En todos los casos clínicamente declarados, la enfermedad resultó invariablemente fatal; después de desarrollarse los síntomas iniciales, los pacientes continuaron viviendo, por término medio, durante una semana;
- 4) Del cerebro de cada uno de los tres casos fatales, que constituyó todo el material humano del sistema nervioso central de que dispusimos para el estudio, se aisló un virus neurotrópico mediante inoculación por vía intracerebral en conejos, cobayos o ratones blancos, y fue identificado más tarde como virus rábico fijo. La enfermedad experimental tiene las siguientes características: a) parálisis progresiva y fatal; b) período breve de incubación (de 5 a 7 días después de la inoculación); c) ausencia total de corpúsculos de Negri en el tejido nervioso; d) neuropatología típica de la infección de virus rábico fijo; y e) elevado título inicial del virus (de $10^{-5.0}$ a $10^{-7.0}$).
- 5) El estudio serológico (pruebas de neutralización y de fijación del complemento) confirmó la

especificidad rábica de las tres cepas de virus humano;

6) Otros dos aislamientos de virus se obtuvieron de la vacuna a la que se atribuía el brote y se identificaron también como virus rábicos fijos;

7) Además, los virus rábicos fijos obtenidos de conejo u oveja, empleados para preparar el lote de la vacuna incriminada, fueron identificados con los otros virus aislados y a los que anteriormente se ha hecho referencia.

No es preciso comentar en este resumen la virulencia del peligro potencial que el virus fijo de Pasteur encierra para el hombre. Remlinger y Bailly (1, 2, 4), del Instituto Pasteur de Tán-ger, la han demostrado en forma magistral.

Desde la contribución de Remlinger sobre la llamada "rabia de laboratorio", ya no cabe duda de que el virus fijo de Pasteur puede ser patógeno para el hombre, ya sea por vía intramuscular o subcutánea, provocando a veces la rabia parálitica de consecuencias letales.

Según Remlinger y Bailly, "la brutalidad de la inyección subcutánea, que dilacera las fibras nerviosas y permite que un cilindroeje se empape

en una emulsión virulenta... desempeña asimismo una función etiológica" (4).

La técnica empleada en la preparación de la vacuna que causó el brote en Fortaleza (vacuna de tipo Fermi) fue de tal naturaleza que el virus rábico fijo pudo aislarse aún de la vacuna preparada después de haber cedido la epidemia, revelando así su falta de inocuidad y que la vacuna no debió haberse usado para la inmunización. La persistencia de virus rábico fijo vivo en la vacuna muestra también que hubo deficiencias en la ejecución y el control del proceso de inactivación.

El accidente de rabia postvacunal ocurrido en Fortaleza, Ceará, Brasil, puede servir de advertencia a los laboratorios encargados de preparar vacunas antirrábicas en cualquier región del mundo.

Por otra parte, el accidente pone de relieve la importancia fundamental de emplear técnicas idóneas de producción y de efectuar pruebas adecuadas de todos los productos biológicos, a fin de verificar su inocuidad y actividad, antes de emplearlos.

POST-VACCINAL FIXED VIRUS RABIES IN FORTALEZA, CEARÁ, BRASIL (*Summary*)

An acute and lethal encephalomyelitis outbreak took place in Fortaleza, State of Ceará, Brazil, from November 11 to 24 of 1960, in people bitten by dogs, who had been submitted, almost immediately after the bite, to a preventive antirabies treatment.

The vaccine in use had been prepared in Fortaleza, according to Fermi's technique, by the Laboratory of the local Public Health Service, with rabies fixed virus from the brain of intracerebrally inoculated sheep. The vaccine had not been adequately submitted to the potency and safety tests normally required for an inactivated virus vaccine.

There was a total of 18 fatal encephalomyelitis cases within a group of 66 persons who had been inoculated with one or more doses of the vaccine suspected as the cause of the outbreak, on the basis of its clinical and epidemiological features.

The average period of incubation, reckoned from the first dose of vaccine, was of 8 days.

Only for 5 out of the 18 cases was it proven that the biting dog was actually rabid. In

another 6 cases with unknown history of the biting dogs the animals were listed as suspects, and in the 7 remaining cases the dogs involved remained healthy.

CNS material collected from three human cases, kept partly in glycerol and partly in formalin, as well as the suspect vaccine in the original vials, were submitted to examination. The rabbit-passage strain of the fixed virus and the sheep-brain material used in the preparation of the incriminated batch of vaccine, were also studied.

Several hypotheses upon the cause of the outbreak could be suggested. The following can be mentioned among the most plausible of them: Fixed-virus rabies; dumb-rabies transmitted by *Desmodus* bats; post-vaccinal neuroparalytic accidents; and another neurotropic-virus (of a known or unknown kind) which could have been accidentally introduced into the vaccine. However, based on the analysis of the epidemiological data, the clinical characteristics of the disease in the epidemic, the absence of cases

in non-vaccinated persons, the high attack rate among the vaccinates (27.3%), the 100% case fatality rate, and the high frequency of paretic and paralyzing forms of the disease among the cases, we were led to believe early in the study that this was an outbreak of "rage de laboratoire", as described by Remlinger (1, 2).

The isolation of rabies virus from the brain and the histopathological findings in the CNS tissue of the three cases under study, added to the pathology seen in the inoculated animals, gave strong support to the hypothesis of encephalomyelitis by rabies fixed-virus. The constant absence of Negri bodies throughout the material under study (aneurigenesis), was in itself further presumptive evidence of rabies fixed-virus.

The following epidemiological and experimental data support conclusively that the outbreak of post-vaccinal encephalomyelitis in Fortaleza was due to laboratory rabies virus. Its elucidation can be, thus, fundamentally condensed:

- 1) Compatible incubation period.
- 2) Symptomatology of an acute and typical paralyzing encephalomyelitis.
- 3) In all clinically declared cases, the disease was invariably fatal; after development of initial symptoms the patients remained alive for an average of one week.
- 4) From the brain of each of the three fatal cases, which was all the human CNS material available to us for study, a neurotropic virus was isolated by intracerebral inoculation in rabbits, guinea-pigs or white mice, and later identified as rabies fixed-virus. The experimental disease is characterized by: a) progressive and fatal paralysis; b) short incubation period (5 to 7 days post-inoculation); c) total absence of "Negri bodies" in nervous tissue; d) typical neuropathology of rabies fixed-virus infection, and e) high initial virus titer ($10^{-5.0}$ to $10^{-7.0}$).
- 5) The serological study (neutralization and

complement fixation tests) confirmed the rabies specificity of the three human virus strains

6) Two other virus isolates were obtained from the incriminated vaccine, and identified also as rabies fixed-virus

7) Furthermore, the source of rabies fixed-virus from rabbit or sheep, used to prepare the batch of the incriminated vaccine, was similar to the other virus isolates previously mentioned.

There is no need to discuss there the virulence or to dissimulate the dangerous potentialities for man of the Pasteur fixed-virus. Remlinger, and Bailly (1, 2, 4), of the Tanager Pasteur Institute, have masterly demonstrated it.

Since the contribution of Remlinger on the so called "rage de laboratoire", there are no longer doubts that the Pasteur fixed-virus can be pathogenic for man, either by intramuscular or subcutaneous route, provoking sometimes lethal paralytic rabies.

According to Remlinger and Bailly, "the brutality of the subcutaneous injection, which lacerates the nerve fibers and permits an axis-cylinder to bathe in a virulent emulsion . . . also plays an etiological role." (4).

The technique used in the preparation of the vaccine which caused the Fortaleza outbreak (Fermi-type vaccine) was such that virulent fixed-virus could still be isolated from the finished vaccine after the epidemic subsided, thus proving its lack of safety and that the vaccine should not have been used for immunization. The persistency of live rabies fixed-virus in the vaccine shows also that the process of inactivation was not properly carried out and controlled.

The rabies post-vaccinal accident in Fortaleza, Ceará, Brazil, can serve as a warning to laboratories in charge of preparing antirabies vaccines in any part of the world.

It further emphasized the vital importance of proper production techniques and of adequate testing of all biologics for safety and potency, before their use.

REFERENCIAS

- (1) Remlinger, P.: La Rage dite de Laboratoire, *Ann. Inst. Pasteur* (Paris) (Suplem.), 25: 35-68, 1935.
- (2) —.: Pasteur et la Rage de Laboratoire, *Bull. Acad. Med.* (Paris), 113 (1): 13-27, 1935.
- (3) —.: Les Paralysies du Traitement Antirabique, *Rev. Immunol.*, 16 (4-5): 280-285, 1952.
- (4) Remlinger, P., e Bailly, J.: *Estudes sur la Rage*, Masson et Cie. Paris, France, 1938, págs. 114-123.
- (5) Gard, S.: Formalized Poliomyelitis Vaccines. Formalin Inactivation Curves of Virus. Panel Discussion, 3rd. International Poliomyelitis Conference, Rome. Apud *Poliomyelitis, Papers and Discussion*, Lippincott Co., Philadelphia, United States, 1955, págs. 202-204.
- (6) Schultz, P.; Rightsel, W.; Timm, E.; Taylor, A., e McLean, Jr., I.: Partially Inactivated Poliomyelitis Virus: Initiation of Infection in Tissue Culture, *Jour. Immunol.*, 79 (6): 497-507, 1957.
-

The basis of medicine is sympathy and the desire to help others, and whatever is done with this end must be called medicine.

J. F. Payne