

"THE LONG SHADOW OF PASTEUR"

*Dr. Hilary Koprowski**

Dr. Acha, Dr. Williams, Dr. Casas, Senhores Diretores de Centro, meus amigos do Centro, meus amigos do Brasil. A última vez em que proferi um discurso, quis comunicar-me em português e em Madri, no ano de 1962. Na realidade, o fiz em "portunhol" e, obviamente, nenhum dos presentes, cuja língua materna era o espanhol, me compreendeu, sendo que eu também não entendi o que me perguntaram. Hoje, repito a tentativa de exprimir-me em português, por ser o idioma do povo brasileiro, para mim o mais simpático do mundo. Acorrem-me duas passagens semelhantes vividas por um par de celebridades pretendendo expressar-se em língua estrangeira. Certa feita, o grande Chagas, indo ao Chile para discorrer sobre a doença que tem o seu nome, decidiu-se a fazê-lo em castelhano. Após a palestra, o presidente da Academia de Ciências, que convidara o orador, disse-lhe: "Dr. Chagas, o senhor tem um português tão claro que podemos compreender todas as suas palavras". A outra teve por protagonista o eminente físico húngaro Szillard. Szillard foi um gênio. Aos 22 anos, concluídos seus estudos na Universidade de Heidelberg, recebeu de Sir Lawrence Bragg, presidente da Sociedade Real de Radiologia da Grã Bretanha, convite para uma conferência a ilustres radiobiologistas ingleses. Szillard julgava dominar perfeitamente o idioma de seus anfitriões. Ao término de sua exposição, Sir Lawrence Bragg interpelou-o: "Mas, em que língua nos falou?" A que Szillard respondeu: "Em húngaro, Sir Lawrence, que o senhor conhece". Sir Lawrence, porém, insistiu: "Bem, se foi em húngaro, por que empregou tantas palavras inglesas?"

Defronto-me, de início, com um problema linguístico, o do título desta apresentação: "The long shadow of Pasteur", visto comportar uma expressão idiomática. "To cast a long shadow" não é

traduzível por "longa ou larga sombra de Pasteur", e nem por "sombra projetada sobre as pesquisas da raiva". A tradução mais fiel ao sentido a que visei talvez fosse: "Luzes e entraves do legado de Pasteur", ou ainda, esclarecendo, "A projeção do passado inibindo as pesquisas". E o tema em questão é precisamente a raiva e as pesquisas pertinentes. A palavra sombra persiste, pois um dos melhores livros escritos sobre Pasteur é "A sombra de Pasteur". Seu autor, Adrião Loir, sobrinho da senhora Pasteur, passou a trabalhar no laboratório de seu tio, por afinidade, quando o grande químico ficou meio paralisado em consequência de acidente cerebral. É Loir quem nos fornece dados muito interessantes sobre o desenvolvimento da vacina da raiva, e mais particularmente sobre as primeiras pessoas inoculadas com a vacina Pasteur.

Todos os senhores se recordam do famoso primeiro vacinado, Joseph Meister, da Alsácia. Mordido por cão raivoso, a 4 de julho de 1885, ministraram-lhe dois dias depois a vacina Pasteur. Não menos conhecido foi o segundo caso, por ter Pasteur ficado convicto de que salvara a vida do garoto seriamente ferido por cão raivoso e que, a seu ver, teria sido vítima fatal da infecção. O terceiro registro de pessoa a receber a vacina Pasteur figura na citada obra de Adrião Loir. A um jovem, filho de casal parisiense, mordido por cão raivoso, Pasteur aplicou sua vacina. O rapazinho morreu de raiva. O médico da família aconselhou ao pai a mover processo contra Pasteur, acusando-o de não ter logrado a cura ou mesmo de ter transmitido a raiva pelo vírus vivo da vacina. O pai já pensava em ação contra Pasteur quando a Academia de Medicina da França, que jamais demonstrava boa aceitação a Pasteur pelo fato de ser químico, como todos sabem, optou por sua defesa, cientificando o pai da vítima. A idéia de processo foi então abandonada.

* The Wistar Institute, 36th and Spruce Streets, Philadelphia, Pennsylvania 19104, EUA.

O aspecto mais curioso desse episódio é que o médico a sugerir a ação judicial era George Clemenceau. É até de se lamentar de que o assunto não tenha ido a tribunal, fazendo-nos perder o confronto do grande Pasteur com o jovem Clemenceau, futuro 1º Ministro da França, durante a Guerra 14-18. A seguir temos o ruidoso acontecimento dos camponeses russos mordidos por lobo raivoso e enviados a Pasteur pelo Tzar da Rússia. Inoculando a vacina, Pasteur ficou certo de ter salvo muitos deles. A verdade, entretanto, é que alguns morreram antes desse encontro, não havendo prova estatística quanto ao tratamento dos demais pela "vacina Pasteur". Durante os anos seguintes, ano após ano, o mundo inteiro ia administrando a vacina Pasteur clássica ou as numerosas modificações, até que Balthazar e Bahmanyar, do Instituto Pasteur no Irã, procederam a levantamento estatístico local relativo a essa vacinação. Ficou registrada a mortalidade de pessoas que, mordidas por cães ou lobos raivosos, tinham sido heroicamente submetidas ao tratamento Pasteur de 21 injeções diárias da dita vacina. Constataram a mortalidade de 40% dos inoculados com a vacina Pasteur (mo-

dificação Fermi). E é, então, o momento de indagarmos: qual a mortalidade causada pela raiva em pessoas mordidas por animais raivosos e não tratadas? A 21 ou 22 de novembro de 1952, um lobo raivoso mordeu 32 campônios numa aldeia a este do Irã. Consultado um médico, o alemão L. Gremlitz, a prescrição foi de penicilina e não de vacina anti-rábica. Incrível é que esse profissional, conhecedor da penicilina em 1952, tivesse ignorado o tratamento Pasteur! Quando 22-24 dias depois, evidenciaram-se os sintomas da raiva, esse médico mandou os infectados, de ônibus, ao Instituto Pasteur do Teherã para o devido atendimento. Sublinhamos que alguns dos que aí receberam o tratamento Pasteur já apresentavam sintomas de raiva. O capítulo trágico exigiu a formulação obrigatória da pergunta: quantas pessoas infectadas morrerão do mal se não tratadas? E pelos dados obtidos (Tabela 1), verifica-se que em mordidas na cabeça a mortalidade é de 50%; nas mãos ou nas pernas de 37%, sendo a média 47%. Se temos no mesmo país 47% de mortalidade de pessoas não tratadas e 40% das que receberam tratamento, é válido duvidar-se da eficiência do tratamento.

TABELA 1. Taxa de mortalidade de pessoas mordidas por um lobo hidrófobo, no Irã, e não tratadas*

Local da mordida	Nº de Pessoas mordidas	Número de mortes	Mortalidade
Face e Pescoço	24	12	50%
Extremidades	8	3	37,5%
Total	32	15	47%

* after Gremlitz, L. *Ztschr. Tropenmed. u. Parasitol.*, 4: 382, 1953.

É então que vamos chegando à segunda etapa da história do tratamento da raiva. Emprego o termo tratamento, que não é exato. Não se trata de terapia em pessoa doente. Emprego-o, de fato, como proteção providenciada imediatamente após a mordida. Essa segunda etapa é a administração do soro anti-rábico. Administrar a pessoas mordidas

os anticorpos contra a raiva já esteve em prática. Marie, um dos conhecidos pasteurianos, aplicava primeiramente o soro. Sob pressão do Instituto Pasteur de Paris e de outros pasteurianos o uso do soro foi desprezado, sendo apenas inoculada a vacina. Dr. Habel e eu, há vinte anos, principiamos a estudar o soro anti-rábico e a possibilidade de sua

utilização conjunta com as vacinas anti-rábicas visando a salvar mais pessoas do que as submetidas somente à vacinação. Dos trabalhos em laboratório, resultou finalmente uma experiência de campo, no Irã, em 1953, um ano após o episódio "Gremlitza". Um lobo raivoso, durante certa noite, mordeu 29 pessoas. O vírus da raiva foi isolado em título alto no cérebro e em glândula salivar desse animal. Balthazar, com Bahmanyar, aplicou pela primeira vez a pessoas atingidas o soro anti-rábico juntamente com vacina (21 injeções). Os resultados figuram na Tabela 2. A mortalidade das que receberam vacina foi de 3 para 5 nas pessoas feridas na cabeça, e nula nas mordidas em outras partes do corpo. No global, a mortalidade das que receberam soro e vacina foi de 1 para 13. Estatisticamente, todavia, esses dados circunstanciais não são relevantes, por só haver controle das pessoas

que, infectadas por cão ou lobo raivoso, foram tratadas, faltando dados sobre injuriadas não submetidas a tratamento. Só depois dessa experiência é que a Organização Mundial da Saúde convocou o Comitê de Peritos, cuja recomendação foi a do uso do soro anti-rábico em todos os casos de mordidas graves. A administração do soro, entretanto, acarreta riscos. Até pouco tempo atrás era produzido em cavalos, desencadeando as complicações da doença de soro. Mas, como vacinas tipo Pasteur e a obtida em embrião de pato (usada nos Estados Unidos) não são muito antigênicas, o emprego de soro e vacina tipo Pasteur ou vacina de embrião de pato não estimulou imunidade suficiente à proteção de todas as pessoas mordidas por animais raivosos. Era, portanto, o momento de se cogitar em modificação da vacina.

TABELA 2. Resultado do tratamento anti-rábico de pessoas mordidas por um lobo hidrófobo no Irã*

EPISÓDIO N° 1							
Horas entre o acontecimento e o tratamento	Local das mordidas	Número de pessoas mordidas	Tratamento			Taxa de mortalidade	
			Soro N° Inj.	Vacina			
				Tipo	N° Inj.		
30	Cabeça	5	2	Phenol	21	0/5	
		7	1	"	21	1/7	
		5	0	"	21	3/5	
	Meninges	1	6	Phenol	21	0/1	
		Extremidades do tronco	4	1	Phenol	21	0/4
			7	0	"	21	0/7

* after Balthazar *et al.*, *Bull. Wild Hlth Org.* 13: 747, 1955.

Os trabalhos para desenvolvimento e produção de uma nova vacina foram iniciados no Instituto Wistar por Dr. Fernandes, aqui presente, e por seu colega Dr. Wiktor, em 1959/60 com a adaptação do vírus rábico à cultura de tecidos. Adaptaram o vírus a duas espécies de cultura de tecidos, uma cultura de hamster e outra humana. Como o vírus da raiva dá título muito alto após adaptação à cultura de tecidos, é possível inativá-lo, obtendo-se uma vacina de alto poder antigênico em compara-

ção com às do tipo Pasteur ou às de embrião de pato. A tabela 3 mostra as primeiras experiências de vacina com alto título antigênico em macacos rhesus inoculados com vírus de rua. Nos macacos vacinados após a inoculação do vírus de rua registrou-se a mortalidade de 1 para 8. Os mesmos resultados conseguiram-se com o soro homólogo do macaco juntamente com a vacina. A mortalidade elevou-se com o uso do soro heterólogo, o qual interfere no desenvolvimento da imunidade ativa

produzida pela vacina. Aqui, pela primeira vez, posso, então, lhes apontar que a vacina contra a raiva preparada em cultura de tecido e inativada pela betapropiolactona ou por raios ultra-violeta protege muito bem os animais infectados com alta dose de vírus de rua.

TABELA 3. Resultados da experiência de aplicação de soro anti-rábico e vacina em macacos Rhesus**

Tratamento	Mortalidade	
	Dias	Taxa (%)
Controle	17	6/7 (86%)
	18	
	16	
	22	
	14	
	18	
Somente vacina no 1º dia (BHK-FCC)*	12	1/8 (12%)
Vacina mais soro homólogo no 1º dia	10	1/8 (12%)
Somente soro homólogo no 1º dia	69	5/8 (63%)
	19	
	12	
	28	
	17	
Vacina mais soro heterólogo no 1º dia	11	1/8 (12%)
Soro heterólogo no 1º dia e vacina no 8º dia	17	3/8 (37%)
	20	
	21	
	40	
Somente soro heterólogo no 1º dia	23	7/8 (88%)
	10	
	21	
	58	
	28	
	12	

* Valor Antigênico (VA) = 49,0.

** after R. K. Sykes, *et al.*, *Bull. Wild Health Org.* 45: 1-11, 1971.

A tabela 4 indica os anticorpos neutralizantes observados em macacos protegidos e também em não protegidos. Verifica-se que o soro heterólogo inibe a imunização ativa por vacina rábica, sendo o uso exclusivo de vacina o suficiente para estabelecer proteção. Em trabalho realizado de parceria com o Departamento de Saúde Pública do Estado de Michigan, estudamos a proteção de macacos após infecção por vírus de rua, com vacina preparada nas células diploides humanas, por não poderem ser utilizadas no homem as células de hamster. A tabela 5 evidencia a proteção completa dada pela vacina Wistar, preparada em células diploides humanas, em confronto com as obtidas em células de hamster no Estado de Michigan. Para mostrar o alto nível de anticorpos neutralizantes contra a raiva no sangue de pessoas submetidas à vacina Wistar, a vacina preparada em células diploides humanas inativada pela betapropiolactona foi comparada a uma vacina Semple, vacina clássica pasteuriana, modificada.

Os resultados deste estudo, como foi publicado por Plotkin e colaboradores, provam a superioridade da vacina produzida em células diploides humanas. No ano passado, no Irã, começaram as grandes experiências realizadas por Dr. Bahmanyar, que empregou a vacina fornecida pelo Instituto Mérieux, de Lyon.

Com se patenteia na Tabela 6, em duas localidades lobos morderam 9 pessoas, e 36 outras, em seis localidades, foram igualmente feridas por cães. Todos os animais foram diagnosticados como raivosos pela constatação da presença do vírus da raiva em seus cérebros, e em 4 dos casos pelo alto título do vírus em glândulas salivar. Todos desse grupo de 45 pessoas receberam uma aplicação de soro anti-rábico e 5 da nova vacina Wistar, preparada em células diploides humanas. Nenhuma das 45 morreu de raiva, tendo todas apresentado em seu soro resposta de altos títulos neutralizantes contra a raiva. É digna de nota a observação quanto ao tratamento ter sido iniciado, em alguns casos, uns dias após a mordida, como por exemplo no grupo E (Tabela 7), 3-4 dias subsequentes. De um modo geral, sabemos que se o tratamento for ministrado a pessoa mordida por animal raivoso, tendo início após mais de 72 horas, pode ser inoperante, e ocorrer a morte.

TABELA 4. Resultados da experiência de aplicação de soro anti-rábico e de vacina em macacos Rhesus. SN Anticorpos Neutralizantes**

Tratamento	Quantidades de soro		Nível de anticorpos (Dias)				Mortalidade		
	Recomendadas (I. U.)	Reais (I. U.)	3	8	Morte	31	56	Dias	Taxa %
Somente vacina no dia 1 (BHK-FCC)*			<2	1750		1400	1400		
			<2	350		1400	1150		
			<2	95		480	350		
			<2	350		1400	800		
			<2	280		1400	1150		
			<2	350				12	1/8
			<2	350		1400	1150		(12%)
Vacina mais soro homólogo no dia 1	72	88	5	15		95	45		
	92	103	18	95	280			10	
	108	103	15	95		70	70		1/8
	84	88	18	230		230	95		(12%)
	88	88	11	33		56	70		
	80	88	15	95		95	160		
	80	88	33	95		350	230		
72	69	5	70		350	480			
Soro heterólogo no dia 1 e vacina no dia 8	80	88	30	9		7	<2	69	
	112	123	18	5		2	3		
	84	88	13	9				19	5/8
	88	88	16	18				12	(63%)
	84	88	22	7	<5			28	
	96	103	26	18		11	3		
	84	88	12	11		3	<2		
84	88	12	7				17		
Soro homólogo somente, no dia 1	88	119	26	18		800	625		
	104	139	32	15		1150	800		3/8
	80	119	31	11				17	(37%)
	93	139	33	9	800			20	
	88	119	44	15		800	280		
	124	166	13	9		95	70		
	84	119	19	9	70			21	
88	119	30	7		1150	1150			

* Valor Antigénico (VA) = 49,0.

** after R. K. Sykes, et al., Bull. Wild Hlth Org. 45: 1-11, 1971.

TABELA 5. Resultados da experiência com vírus da raiva em macacos *Rhesus* inoculados com vacinas rábicas originárias de cultura de tecidos***

Vacina (concentração)*	Nº de doses	Valor antigênico**	Nº mortos/Nº testados (%)	Mortes no dia
Nome	7/12 (58)	16, 19, 19, 21, 23, 29, 48
HDC-W	1	29,00	0/11 (0)	. . .
HDC-M	3	2,95	4/12 (33)	13, 13, 15, 48
PHK (40-fold)	1	3,40	3/8 (38)	9, 12, 16
PHK (10-fold)	3	1,60	5/12 (42)	13, 15, 16, 16, 17

NOTA:

Os macacos foram testados com New York City-Georgia vírus de rua ($10^{5.0}$ camundongo intracerebral DL_{50} em 0,6 ml) injetado no músculo dorso-cervical sob anestesia leve.

* Origens das vacinas são as seguintes: HDC-W = cultura em células diploides humanas (Wistar); HDC-M = cultura em células diploides humanas (Mérieux); PHK = cultura em célula renal primária "hamster".

** Valores antigênicos foram determinados por teste de potência do National Institute of Health.

*** after T. J. Wiktor, *et al.*, *J. infect. Dis.* 133: A260-A265, 1976.

TABELA 6. Animais mordedores**

Espécie	Vila	Data do ataque	Nº de pessoas	Confirmação de Raiva	
				IF-Cérebro*	Títulos de glândulas salivares \neq
Cão	Kharileh	09 de junho, 1975	7	+	NA ⁺
Cão	Seylab	19 de julho, 1975	1	+	NA
Cão	Cheverin	12 de setembro, 1975	11	+	NA
Lobo	Aghbulagh	20 de outubro, 1975	7	+	5,6
Cão	Baderlou	26 de outubro, 1975	1	+	NA
	Oghul Beyk	26 de outubro, 1976	1		
	Qara-Boulagh	27 de outubro, 1975	2		
Cão	Alishtar	31 de outubro, 1975	6	+	5,0
Lobo	Hossein-Abad	27 de novembro, 1975	1	+	5,1
	Bagher-Abad	27 de novembro, 1975	1		
Cão	Darrehchin	19 de janeiro, 1976	4	+	4,1
	Chakmikush				
	Bouryabaf	20 de janeiro, 1976	3		

* Presença de antígenos rábicos nos tecidos cerebrais demonstrada por imunofluorescência direta (IF).

\neq Títulos de vírus rábicos das glândulas salivares, camundongo $DL_{50}/0,03$ ml (log 10).

+NA = Não disponível.

** after M. Bahmanyar, *et al.*, *J. Am. med. Ass.* 236 (24): 2752, 1976.

TABELA 7. Efeito da combinação de antisoro e vacina de células diploides humanas no tratamento de pessoas expostas a infecções rábicas***

Grupo por animal mordedor	Indivíduos expostos														
	Nº	Sexo	Idade	Demora* antes do tratamento	Tipo	Ferimentos			Títulos anticorpos**						
						Local atingido	Roupa	Nº de ferimentos inflig.	0	3	7	14	30	90	100
D Lobo	1	M	19	32 h	Profundo	Joelho	N	2	0	0,3	0,7	0,0	6,5	8,3	30,5
	2	F	35	"	Punctura profunda lacerada	Dedos e braços	N	14	0	0,4	1,3	0,7	5,1	11,0	94,0
	3	M	55	"	Lacerado	Face, cabeça e mãos	N	20	0	0,3	1,0	1,3	11,4	11,4	76,0
	4	M	20	"	Profundo	Perna e joelho	N	8	0	0,6	0,6	1,3	16,8	30,0	554,0
	5	M	45	"	Profundo e punctura	Dedos, pés e tornozelo	N	7	0	0,4	0,7	0,7	7,6	9,0	153,0
	6	M	7	"	Profundo e lacerado	Cabeça, pescoço, face e orelha	N	25 [†]	0	0,9	0,6	0,7	40,0	30,0	130,0
	7	M	40	"	Profundo e lacerado	Pulso e dedos	N	7	0	0,3	0,6	0,6	6,7	25,5	—
E Cão	1	M	42	84 h	Punctura profunda	Mão, pernas e pé	N	4	0	1,4	0,6	11,2	387,0	6,9	—
	2 [‡]	M	45	76 h	—	sup. mucosa contaminação	—	0	0	0	0,2	3,6	38,5	7,0	184,0
	3	F	45	"	Profundo	Pulso, tornozelo	N	3	0	0,4	0,3	—	98,0	31,0	769,0
	4	M	50	60 h	Profundo	Perna e pé	N	2	0	0,4	0,6	9,6	24,0	23,0	—

* h = hora.

** Títulos anticorpos determinados pelo teste de neutralização de vírus em camundongos com idade de 4 a 6 semanas (ver texto) e expressos em termos de UI anticorpos neutralizantes em 1 ml de plasma.

§ N. nu. A referência é a ferimentos infligidos diretamente sobre a pele descoberta.

‡ Sem aplicação de soro.

*** Fragmento da tabela 2, M. Bahmanyar, et al., Successful protection of humans exposed to rabies infection. J. Am. med. Ass. 236 (24): 2753, 1976.

Caberia, novamente, a pergunta: quantas das 45 teriam morrido se não vacinadas, e, baseando-me na experiência de Gremlitza (Tabela 1), creio que não menos de 35% teria perecido. Assim, pela primeira vez no mundo, foi possível salvar 45 pessoas mordidas por cães e lobos raivosos pelo emprego de vacina de alto poder antigênico combinada com soro. Estamos, então, na última etapa da história de vacinação contra a raiva em seres huma-

nos. Com eficiente vacinação de cães e outros animais domésticos, com a eliminação dos focos de raiva em animais selvagens e, agora, finalmente, pela vacinação do homem com vacina eficaz, é lícito admitirmos a possibilidade de erradicação da raiva humana. Cabe mesmo a esperança de que no curso dos próximos 10 anos não mais se registre um só caso de raiva.

AGRADECIMENTOS

O autor expressa os seus agradecimentos à Organização Mundial da Saúde, à The Journal of Infectious Diseases, ao Journal of the American Medical Association e à Editorial Eco, S.A. de Barcelona, pelas suas respectivas autorizações para a reprodução das tabelas.

À Sra. Odila Dudus, da Fundação Anchieta de São Paulo, o seu especial reconhecimento pela correção da versão em português.

. . .