

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE VARIOLA. III — RESULTADOS DO TERCEIRO ANO DE ATIVIDADES \*

J. A. Mesquita \*\* e H. G. Schatzmayr \*\*\*

*Os autores apresentam os resultados obtidos no terceiro ano de atividades do laboratório de Diagnóstico de Variola, no Instituto Presidente Castello Branco, da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro.*

*O exame de 82 espécimens de crosta e de 70 de líquido vesicular/pustular forneceu respectivamente 14 e 16 amostras de vírus da variola (Tabela 1).*

*Oriundos do Estado da Guanabara, foram examinados 33 espécimens e isoladas 23 amostras de vírus variólico (Tabela 2).*

*Foram comparadas as vacinas antivariólicas preparadas em ovos embrionados e as preparadas em pele de vitelos, tendo sido consideradas equivalentes nas condições descritas.*

*O laboratório continua a receber regularmente mais espécimens para diagnóstico.*

As atividades da Campanha de Erradicação da Variola (CEV) no Brasil têm evidenciado a importância do laboratório de diagnóstico.

Com a conclusão da fase de ataque da CEV em todo o território brasileiro (1), no primeiro semestre de 1971, inicia-se agora a fase de vigilância epidemiológica, em que o laboratório assume a grande responsabilidade de apoiar as operações de recobertura e bloqueio de casos esporádicos.

O presente trabalho relata os resultados obtidos durante o terceiro ano de atividades no laboratório de Vírus Vesiculares e Exantemáticos do Instituto Presidente Castello Branco da Fundação Instituto Oswaldo Cruz sob os seguintes aspectos:

I — Exame de 152 espécimens coletados em diferentes estados do Brasil, através a CEV e serviços regionais de Saúde Pública. Em nosso laboratório desde maio de 1969, já foram examinados 423 espécimens, dos quais os primeiros 271 foram alvo de publicações anteriores (5 e 6).

II — Análise estatística de uma comparação entre vacinas antivariólicas produzidas em ovo embrionado e em vitelo, avaliadas por titulação de anticorpos inibidores da hemaglutinação em primovacinados.

(\*) Trabalho do laboratório de Vírus Vesiculares e Exantemáticos, Instituto Presidente Castello Branco, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, executado em parte com o auxílio do CNPq.

(\*\*) Professor-Assistente, responsável pelo laboratório de vírus vesiculares e exantemáticos.

(\*\*\*) Professor-Titular, responsável pelos laboratórios de Vírus.  
Endereço Telegráfico: SAPÚBLICA, Caixa Postal 8016 — ZC-24.  
Rio de Janeiro — Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

I — De 152 pacientes, foram examinados 82 espécimens de crostas e 70 de líquido vesicular/pustular.

Essencialmente, foram empregados os métodos de trabalho recomendados pela Organização Mundial da Saúde, com modificações descritas anteriormente (3, 5 e 6).

II — A comparação entre as vacinas antivariolísticas obedeceu a seguinte ordem cronológica de procedimentos:

- a) distribuição das vacinas produzidas no Instituto Oswaldo Cruz (V.A.V. — 0L221 e V.A.V. — VL271), a dois Postos de Saúde, um na Tijuca e outro em Jacarepaguá em quantidades suficientes para que cada frasco de vacina aberto fôsse desprezado ao fim de cada um dia de uso.
- b) uma coleta de sangue, por punção venosa, das crianças ao serem vacinadas contra varíola, nos postos citados. Incluíram-se no estudo 55 crianças no grupo etário de 5 a 22 meses.

c) leitura de "pega" aos 7 dias da vacinação.

d) uma segunda coleta de sangue um mês após a vacinação.

No Laboratório congelaram-se as amostras de sôro à medida em que foram recebidas, sendo mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o recebimento da 2ª coleta.

Procedeu-se à titulação de anticorpos por inibição da hemaglutinação em microtitulação como anteriormente descrito (2 e 4).

Os resultados sorológicos da primeira e segunda coletas foram pareados, e procedeu-se à análise estatística comparativa dos títulos de anticorpos circulantes encontrados.

## RESULTADOS

I — De 152 espécimens examinadas, 30 amostras de vírus da varíola foram isoladas em ovos embrionados e identificadas sorologicamente por precipitação em agar-gel.

As taxas de isolamento alcançaram 17% e 23%, respectivamente para espécimens de crostas e de líquido vesicular/pustular (Tabela 1).

T A B E L A 1

## NATUREZA DOS ESPÉCIMENS E RESULTADOS LABORATORIAIS

NATUREZA DOS ESPÉCIMENS	RESULTADO VARIOLA	RESULTADO NEGATIVO	TOTAL DE EXAMES
Crostas	14 (17%)	68	82
Líquido Vesicular/Pustular	16 (23%)	54	70
<b>TOTAL DE RESULTADOS</b>	<b>30</b>	<b>122</b>	<b>152</b>

No Estado da Guanabara foram isoladas 23 amostras de vírus da varíola, dentre 33 espécimens examinados no período (Tabela 2).

T A B E L A 2

ORIGEM DOS ESPÉCIMENS EXAMINADOS  
E AMOSTRAS DE VARÍOLA ISOLADA  
POR ESTADOS DA FEDERAÇÃO

ESTADOS	Espécimens examinados	Amostras de varíola
Guanabara	33	23
Bahia	29	3
Espírito Santo	28	—
Ceará	20	—
Pernambuco	18	—
Sergipe	9	3
Rio de Janeiro	6	—
Distrito Federal	3	1
Maranhão	2	—
Alagoas	1	—
Amazonas	1	—
Minas Gerais	1	—
Paraíba	1	—
<b>TOTAIS</b>	<b>152</b>	<b>30</b>

II — Todos os casos apresentaram leitura positiva de "pega". Todos apresentaram sôro-conversão, isto é, deram resultado de HI 1:10 na primeira coleta e títulos que variaram entre HI 1:10 e 1:640 (Tabela 3).

O título geométrico médio de anticorpos detectados por inibição da hemaglutinação, foi de 1:57,61 para o grupo que recebeu V.A.V.-0L221 e de 1:94,17 para o grupo que recebeu V.A.V.-VL271.

T A B E L A 3

TÍTULOS IH E TGM OBTIDOS 30 DIAS  
APÓS A PRIMOVACINAÇÃO ANTIVARIÓLICA  
COM VAV-0L221 E VAV-VL271

TÍTULOS IH	VAV-0L221	VAV-VL271
1:10	2	—
1:20	8	2
1:40	5	2
1:80	17	5
1:160	4	7
1:320	1	—
1:640	1	1
Vacinações	38	17
T.G.M.	1:57,61	1:94,17

Tit. IH = Título de anticorpos inibidores da hemaglutinação.

TGM = Título geométrico médio calculado a partir dos títulos IH.

VAV-0L221 = Vacina antivariólica produzida em ovo embrionado, lote 221.

VAV-VL271 = Vacina antivariólica produzida em vitelo, lote 271.

## DISCUSSÃO

I — A taxa de isolamento de vírus a partir de espécimens de líquido vesicular/pustular maior que de espécimens de crostas (Tabela 1), deve ser interpretada considerando-se que a maioria dos espécimens de líquido vesicular/pustular foi oriunda de áreas próximas ao laboratório, demorando menor tempo entre a coleta e o exame.

O isolamento de vinte e três amostras, dentre os trinta e três espécimens recebidos do Estado da Guanabara (Tabela 2), reforça o comentário do período anterior. Seis dessas amostras foram isoladas entre fevereiro e abril de 1971, e completam, com outras treze amostras não recebidas em

nosso laboratório, os únicos 19 casos notificados à CEV até junho deste ano no Brasil (2).

II — Como o título geométrico médio (T.G.M.) dos anticorpos de primovacinações, detectados por inibição da hemaglutinação foi mais baixo para o grupo que recebeu VAV-0L221 (TGM = 1:57,61), do que para o grupo que recebeu VAV-VL271 (TGM = 1:94,17), foi aplicado o teste de diferença de médias, o que resultou  $T_{\text{calc}} = 1,96137$  contra  $T_{\text{TAB}} = 2,0003$  ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

Como  $T_{\text{calc}} < T_{\text{TAB}}$ , conclui-se que não existe diferença significativa no título médio entre os dois atributos.

Considerando os resultados da análise estatística, além de que todas as vacinações estudadas correspondem a "pega" e soroconversão, podemos considerar como equivalentes os resultados obtidos com os dois tipos de vacinação antivariólica empregados, nas condições descritas.

Estes dados apesar das naturais dificuldades encontradas para se obter um maior número de crianças, parecem-nos importantes em nosso meio de vez que as vacinas antivariólicas em ovo embrionado são preparadas e empregadas em larga escala no nosso País.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratorista Ismael da Rocha Lopes pela excelente assistência técnica prestada.

#### S U M M A R Y

*The authors present the results which have been obtained during the third year of work in a Smallpox Diagnosis Laboratory unit set up to support the National Smallpox Eradication Campaign in Brazil.*

*The examination of 82 crusts and 70 vesicular/pustular fluid specimens resulted in the isolation of 14 and 16 smallpox strains respectively (Table 1).*

*The examination of 32 specimens from Guanabara State resulted in the isolation of 23 smallpox strains (Table 2).*

*Both vaccines prepared on embrionated hen eggs and prepared on calf skin have been compared and results were similar in the described conditions.*

*The laboratory is getting regularly more specimens for diagnosis.*

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — Boletim da C.E.V., tomo 5 nº 19, págs. 1 e 3, 1971.
- 2 — Boletim da C.E.V., tomo 5 nº 17, pág. 7, 1971.
- 3 — Guide to the laboratory diagnosis of smallpox, World Health Organization, Geneva, 1969.
- 4 — HIERHOLZER, J.C., SUGGS, M.T. & HALL, E.C. — Standardized viral hemagglutination and hemagglutination-inhibition tests — I and II, appl. Microbiol., 18:816-833, 1969.
- 5 — SCHATZMAYR, H.G. & MESQUITA, J.A. — Diagnóstico laboratorial de variola. I — Resultados do primeiro ano de atividades, Rev. Soc. Bras. Med. Trop. IV: 355-359, 1970.
- 6 — SCHATZMAYR, H.G. & MESQUITA, J.A. — Diagnóstico laboratorial de variola. II — Resultados do segundo ano de atividades, Rev. Soc. Bras. Med. Trop. IV: 371-375, 1970.
- 7 — SEVER, J.L. — Application of a microtechnique to viral serological investigations. J. Immunol. 88: 320-329, 1962.