

ACIDENTE DE VACINAÇÃO ANTI-RÁBICA COM O USO DE VACINA FLURY (VÍRUS DE BAIXA PASSAGEM), EM BOVINOS¹

RENATO AUGUSTO DA SILVA² e JALMYR JOAQUIM DOS PASSOS³

Sumário

Em uma fazenda de criação de bovinos de raça zebuina (*Bos indicus*), situada no antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, foi estudado um acidente de vacinação provocado pela utilização de uma vacina avianizada, contra a Raiva, elaborada com vírus rábico modificado, amostra Flury, de baixa passagem em ovo. Foram vacinados 483 bovinos e 26 equídeos, adoecendo 52 bovinos, dos quais morreram 39, havendo a recuperação de 13 animais.

Foram isoladas 17 amostras de vírus rábico de 29 animais necropsiados, inoculando-se camundongos adultos e lactentes, pela via intracerebral, com suspensões de encéfalo e de medula cervical.

O estudo de uma destas amostras isoladas (material 1.330), revelou patogenicidade para coelhos, cobaios e hamsters, inoculados pelas vias intramuscular e intracraniana. O título da amostra de vírus em camundongos lactentes e adultos foi de $10^{3.50}$ DL⁵⁰ via intracerebral, na dose de 0,03 ml. No embrião de pinto, com 7 dias de incubação, a amostra de vírus cresceu com facilidade, quando inoculada pela via saco da gema.

A amostra da vacina que ocasionou o acidente foi também submetida às provas de inoculação em animais de laboratório. Comportou-se como vírus de baixa passagem em embrião de galinha, pois foi letal para camundongos lactentes e adultos, coelhos e cobaios, inoculados com a vacina pelas vias intracerebral e intramuscular, os quais sucumbiram com sintomatologia rábica.

A inoculação de 10 amostras de sangue coletadas na fase inicial da doença não revelou a presença de vírus no sangue circulante.

A identificação do agente isolado foi feita por prova de soro-neutralização e pela facilidade da amostra para crescer em embrião de galinha indicando ser a mencionada amostra, um vírus rábico modificado.

INTRODUÇÃO

A amostra de vírus rábico, denominada Flury, após uma série de passagens no embrião de galinha, vem sendo usada em vários países para a imunização de pequenos e grandes animais e em caráter experimental no próprio homem. Esta amostra de vírus rábico foi isolada por Leach e Johnson (1940), do sistema nervoso de uma menina chamada "Flury" que havia morrido de raiva. Posteriormente, esta amostra de vírus foi cedida à Koprowski e Cox, na forma liofilizada, representando 136 passagens em cérebro de pintos de um dia para os trabalhos de

adaptação ao embrião de galinha. Verificaram estes pesquisadores que nas passagens no embrião de galinha, o poder invasor do vírus para coelhos, por via parenteral pareceu ser inteiramente nulo e que a virulência para hamsters e cobaios sofreu alguma atenuação (Koprowski & Cox, 1948a). Continuando o estudo da amostra no embrião, Koprowski e Black (1950), verificaram a possibilidade de sua utilização na vacinação em massa da população canina e demonstraram que a imunidade produzida pelo vírus Flury, nos cães vacinados, permanecia por 2 anos. Koprowski *et al.* (1954), relataram ainda, que após prolongado cultivo do vírus rábico Flury em ovo embrionado, houve perda de sua propriedade patogênica para camundongos de 14 dias de idade ou mais velhos, inoculados pela via intracerebral. Entretanto, camundongos lactentes, permaneceram suscetíveis. Cães e coelhos apresentaram-se altamente resistentes à inoculação intracerebral do vírus, mas *Macacus rhesus*, mostrou-se tão suscetível quanto camundongos novos (lactentes).

Programas de vacinação anti-rábica em bovinos com a vacina Flury, foram orientados em vários

¹ Trabalho apresentado no IV Congresso Panamericano de Medicina Veterinária e Zootecnia, realizado no México em 1962 e no IX Congresso Brasileiro de Veterinária, realizado em Salvador, Bahia, em 1964. Boletim Técnico n.º 12 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

² Chefe da Seção de Vírus do IPEACS e Professor Assistente de Ensino Superior da Escola Nacional de Veterinária.

³ Veterinário da Seção de Vírus do IPEACS, km 47, Campo Grande, Rio de Janeiro.

países. Camargo *et al.* (1953), no México, publicaram os resultados satisfatórios da utilização do vírus Flury de baixa passagem em 310.000 bovinos, havendo uma única notificação de acidente post-vacinal. Schroeder *et al.* (1962), informaram sobre os resultados de um programa de vacinação em Honduras, Costa Rica e Guatemala, com o emprêgo do vírus Flury de baixa passagem. A inocuidade e a eficiência da vacina foi comprovada num total de 6.087 bovinos. Starr *et al.* (1954), em Atlanta na Georgia, relataram que a vacina anti-rábica Flury, amostra de baixa passagem, demonstrou ser inócua para 1.107 bovinos e Gomez *et al.* (1955), na Colômbia, obtiveram resultados satisfatórios em estudos experimentais com o uso da amostra Flury de baixa passagem, em bovinos.

Trabalhos experimentais para a imunização do homem com a amostra Flury de alta passagem, foram orientados por Schwab *et al.* (1955) e por Fox *et al.* (1957).

Casos de acidentes de vacinação com o uso da amostra Flury de baixa passagem têm ocorrido. Assim, Camargo *et al.* (1953), relataram um caso de acidente em bovino, no qual o animal mostrou sintomas de raiva e se paralizou depois de aplicação da vacina Flury, parecendo indicar que a inoculação foi feita em um dos nervos do sítio de aplicação da vacina. Posteriormente, Koprowski (1955), relatou que 639 bovinos vacinados numa Seção de Estado de Nova Iorque com vacina Flury, representando 48 passagens em ovo, houve morte em 2 bovinos e 8 manifestaram incoordenação e fraqueza da perna trazeira. Os 8 animais restabeleceram mas um permaneceu parcialmente paralizado. Steele (1955), descreveu 2 acidentes em pequenos animais num total de 1.700.000 animais vacinados. Um deles se refere ao caso de um cão de 11 semanas, que foi vacinado na região do pescoço com 3 ml de vacina. Aos 12 dias de vacinação, o animal mostrou-se doente, vindo a morrer de raiva. O segundo caso, foi de um gato que mostrou sintomas de raiva após 22 dias de vacinado. Randall (1955) na Virgínia, referiu-se a vacinação de 870 cães selecionados com a vacina de embrião de pinto. Dez cães tiveram fraca reação febril; 9 sofreram paralisia post-vacinal e 18 apresentaram branda reação transitória e 4 morreram. Vaughan *et al.* (1961), notificaram o isolamento de vírus rábico da glândula salivar de um gato, que morreu após vacinação com vírus Flury de baixa passagem, sugerindo que este vírus fôsse o próprio vírus Flury vacinante, pelas provas de laboratório realizadas.

No que diz respeito às reações alérgicas produzidas pela vacina Flury, Batson (1960), descreveu 2 casos observados em cães.

No presente trabalho, apresentaremos um estudo sobre o acidente de vacinação anti-rábica, ocorrido em bovinos do Estado da Guanabara com o uso da amostra Flury de baixa passagem onde foram isoladas 17 amostras de vírus rábico.

MATERIAL E MÉTODOS

Em uma fazenda, situada no Estado da Guanabara, procedeu-se a vacinação anti-rábica de um rebanho, constituído de bovinos das raças Nelore e Guzarat com vacina contendo vírus rábico modificado, elaborada no mesmo Estado.

O motivo da vacinação do rebanho na mencionada fazenda, originou-se do fato, de ter sido diagnosticado clinicamente casos de raiva bovina, em propriedades vizinhas à fazenda, que foram confirmados por exames laboratoriais.

A vacina foi cedida ao interessado na forma congelada, sendo conservada neste estado até o momento de sua aplicação, quando então, se procedeu ao descongelamento.

O processo de vacinação foi realizado em três etapas. Na primeira, vacinaram-se 102 bovinos com a idade compreendida entre 9 a 26 meses; numa segunda etapa, com intervalo de 3 dias vacinaram-se 212 animais, desde 2 meses de idade até a idade adulta e finalmente após 5 dias da segunda vacinação, vacinaram-se 169 bovinos, desde 1 mês até a idade adulta. Nesta mesma ocasião, foram também vacinados 26 equídeos.

A vacina foi inoculada pela via intramuscular na dose de 5 ml, sendo que alguns animais receberam na musculatura do trem posterior e outros, na região da tábua do pescoço. Este procedimento se justificou pela maior dificuldade na aplicação da vacina nos músculos do trem posterior e por refluxo da mesma, observado em alguns animais, quando aplicada naquela local.

Decorridos 11 dias de vacinação, alguns bovinos apresentaram sintomas anormais, que chamaram a atenção do técnico que orientou a vacinação do rebanho, traduzidos por incoordenação de movimentos, fraqueza das pernas, torcicolo, sialorréia e paresias. Com o decorrer do tempo, estes sintomas se agravaram e os animais quedavam-se no chão, já paralizados, apresentando muito deles, movimentos de pedalagem (Figs. 1 a 4). Nesta ocasião, fomos solicitados para estudar o que ocorria na fazenda, sendo então coletado sangue periférico de 10 bovinos doentes por punção da veia jugular, para trabalhos posteriores.



FIG. 1. Bovinos no curral, apresentando atitudes normais.

O cérebro, cerebelo, bulbo e a medula espinhal, correspondente à região cervical eram retirados dos animais mortos ou sacrificados no estado comatoso. Fragmentos destes tecidos foram encaminhados à Seção de Anatomia Patológica, a fim de serem estudados pelo Professor Jefferson Andrade dos Santos, Chefe da referida Seção. O restante do material conservávamos em temperatura de menos 20° C, para posterior utilização.

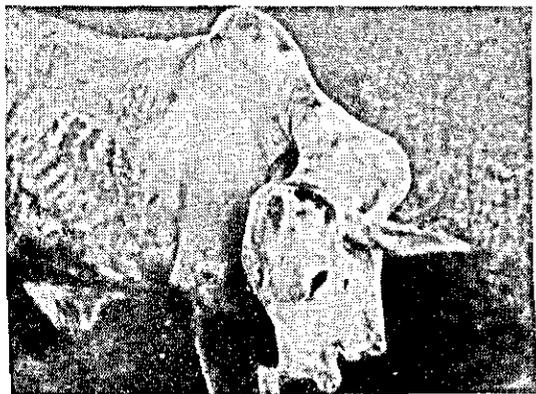


FIG. 2. Animal com acentuado torcicolo.

Isolamento de vírus

a) *Preparo do inoculum.* Suspensões individuais do encéfalo e da medula cervical de cada animal foram realizadas, num total de 29 suspensões de encéfalo (cérebro, cerebelo e bulbo) e 29 suspensões de medula cervical.

Inicialmente, pesavam-se estes tecidos, que eram macerados em gral adicionando-se soro fisiológico a 8,5 por mil, de modo a prepararmos uma suspensão tissular a 20%. Em seguida, centrifugavam-se estas

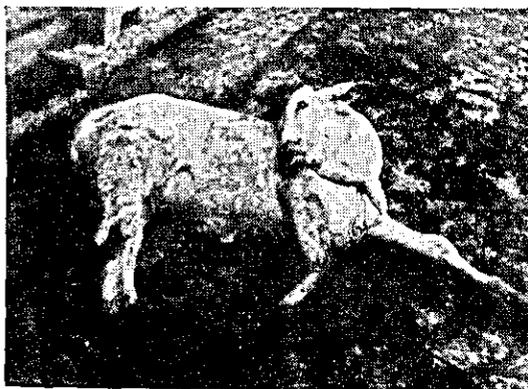


FIG. 3. Animal na fase paralítica; cabeça em epistôtono.

suspensões a 2.000 r.p.m. durante 10 minutos, separando-se os sobrenadantes dos sedimentos e se-meando-se em caldo simples e agar simples.

b) O sangue coletado de 10 animais, na fase inicial da doença foi adicionado de água destilada em partes iguais para a inoculação em animais de laboratório.

c) *Inoculação em camundongos.* Camundongos de 8 a 28 dias de idade, foram inoculados na dose



FIG. 4. Animais paralisados.

de 0,03 ml de cada inoculum, pela via intracerebral, ficando em observação pelo período de 21 dias.

Identificação do vírus

Para a identificação do vírus, usamos: a) prova de soro-neutralização e b) exame histopatológico.

a) *Prova de soro-neutralização.* Amostra de vírus: utilizamos a amostra registrada sob o número 1.330, isolada de um dos animais procedentes do local do acidente. O vírus recuperado do encéfalo e da medula cervical, encontrando-se na 10.^a passagem em camundongos, via cerebral.

Sôro: um sôro imune, com alto teor em anti-corpos para o vírus da raiva, proveniente do Instituto Estadual de Veterinária do Estado da Guanabara e um sôro normal de carneiro foram usados.

Técnica: prova de sôro-neutralização constitui em se colocar em tubos de hemólise, quantidades iguais de vírus, que variaram de 10^{-6} a 10^{-1} para o sôro normal de carneiro e de 10^{-5} a 10^{-1} para o sôro padrão e a salina. Em seguida, agitavam-se bem os tubos, permanecendo estas misturas em banho maria a 37°C por 1 hora. Após, êste período, os tubos contendo as misturas eram transferidos para um banho gêlo, procedendo-se então, as inoculações intracerebrais nos camundongos de 28 dias de idade na dose de 0,03 ml. Para cada diluição usávamos um lote de 6 animais.

O cálculo de título do vírus e das doses neutralizantes foram baseadas no método de Reed e Muench (1938).

b) *Exame histopatológico.* Os fragmentos do encéfalo e da medula retirados de 29 animais após a morte eram fixados em formol-salina, incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados pela hematoxilina-eosina e pelo Mann.

A pesquisa de corpúsculos de Negri em esfregaços, foi realizada em 10 cérebros de animais mortos, e para tal fim, utilizou-se a técnica de Faraco (Bier 1961). Estes corpúsculos, foram também pesquisados nas células nervosas dos animais de laboratório, experimentalmente inoculados, usando-se a mesma técnica.

Comportamento do vírus isolado no embrião de galinha

A fim de verificarmos o comportamento de uma das amostras de vírus isolada do local do acidente, no embrião de galinha, escolhemos para êste trabalho a amostra 1.330.

Preparo do inoculum. Realizamos suspensão a 20% de cérebro de camundongos infectados representando a 2.^a passagem do vírus nesta espécie, conforme a técnica mencionada anteriormente, fazendo-se controle bacteriológico da suspensão em caldo simples e agar simples.

Embriões de 7 dias, procedentes de aves livres de enfermidades e cujos ovos, de casca branca, firme e uniforme, eram marcados no centro da câmara de ar e ao nível do embrião, sendo colocados em pé, de tal forma que a câmara de ar ficasse para cima. Para a inoculação, o vértice desta câmara era desinfetado com uma solução de iodo a 1% e neste local se fazia uma perfuração com aparelho especial, a fim de permitir a passagem da agulha de número 27 com

4cm de comprimento adaptada a uma seringa. A agulha era introduzida através a câmara de ar, desviando-se-a para o lado oposto onde se encontrava o embrião, de maneira que o inoculum na quantidade de 0,2ml ficasse depositado no saco vitelino. Em seguida, os orifícios eram selados com uma mistura de cêra e parafina (Camargo *et al.* 1953).

Os ovos inoculados, eram levados novamente à incubadeira e ovoscopias diárias eram realizadas para se eliminar os embriões mortos e ao 9.^o dia se coletavam os embriões vivos.

Patogenicidade do vírus isolado para animais de laboratório

As propriedades patogênicas de uma das amostras de vírus isoladas do local do acidente (amostra 1.330), foram estudadas no coelho, cobaio e hamsters.

A amostra de vírus mantida em cérebro de camundongos, foi diluída a 1:5, 1:25 e 1:125, sendo inoculada nestas diluições, nas doses de 0,2ml pela via intracerebral e 5ml, pela via intramuscular, nos cobaios e coelhos. Os hamsters foram apenas inoculados pela via intra-muscular com a dose de 1ml, de cada diluição. Os animais eram observados pelo período de um mês.

Comportamento da vacina em animais de laboratório

a) *Titulação em camundongos.* Grupo de 8 camundongos adultos e lactentes, foram inoculados pela via intracerebral, na dose de 0,03ml com diluições de vacina, que variaram de 10^{-6} a 10^{-1} . Observávamos os animais por 15 dias.

b) *Inoculação de vacinas em coelhos e cobaios.* A vacina foi diluída a 1:5 e 1:25, em salina estéril, sendo inoculada no coelho pelas vias intracraniana e intramuscular, nas doses de 0,2 e 5ml, respectivamente. Os cobaios, receberam doses menores, sendo inoculados com 1,1ml, intracerebralmente e 1ml por via intramuscular. Os animais inoculados permaneciam em observação pelo período de um mês.

RESULTADOS

Isolamento de vírus

a) *Suspensão de tecido nervoso.* Dos 29 animais necropsiados, isolamos 34 amostras de vírus, sendo 17 amostras de suspensões de encéfalo (cérebro, cerebelo e bulbo) e 17 amostras de suspensões de medula cervical, correspondentes aos mesmos animais.

Os camundongos de 8 a 28 dias de idade, inoculados pela via intracerebral, com as suspensões livres de bactérias, exibiram quadro típico de raiva, no período de 6 a 8 dias, após a inoculação.

b) *Suspensão de sangue.* As suspensões de sangue, referentes aos 10 primeiros bovinos que adoeceram, deram resultados negativos em camundongos de 8 a 28 dias de inoculados pela via intracerebral.

Identificação do vírus

a) *Prova de soro-neutralização.* O Quadro 1, demonstra o resultado desta prova. O soro imune com anticorpos para o vírus rábico, apresentou índice de neutralização menor que 1,0 correspondente a uma neutralização maior que 199 doses neutralizantes. O título infectante do soro normal de carneiro foi de 10^{-250} . O título do vírus considerado foi dado pela mistura de vírus mais salina, que corresponde a diluição de 1:1.996.

Verifica-se por esta prova, que a amostra de vírus isolada, foi neutralizada pelo soro possuidor de anticorpos rabícidias.

b) *Exame histopatológico.* As lesões se traduziam por uma encefalite não purulenta, sendo os infiltrados inflamatórios, constituídos de linfócitos poliblastos e raríssimos eosinófilos, os quais se assestavam na parede e ao redor dos vasos (Fig. 5). Lesões infla-



FIG. 5. Lesões inflamatórias do encéfalo, percebendo-se infiltrados linfocitários e monocitários ao redor dos vasos.

matórias representadas por uma proliferação do endotélio dos capilares eram também observadas em alguns pontos. Estas lesões se assestavam tanto na substância branca (leucoencefalite) como na cinzenta (polioencefalite) e apareciam na cortex como no Corno de Amon, bem como no bulbo e na ponte, sendo particularmente graves e constantes nestas duas últimas estruturas.

No cerebelo, as alterações inflamatórias se localizavam sobretudo em sua pia mater; em alguns espécimes, nódulos gliais da camada molecular deste órgão estavam presentes.

Nas diferentes porções da medula foram observadas lesões inflamatórias da mesma natureza, mais

acentuada em sua porção cinzenta. Não obstante a gravidade das lesões inflamatórias da medula, em alguns casos, uma boa preservação de suas células nervosas era observada, a qual se revelava pela integridade de suas granulações tigroides.

Comportamento do vírus isolado no embrião de galinha

Amostra 1.330, correspondente ao vírus isolado do local do acidente, mostrou-se facilmente adaptável ao embrião de galinha de 7 dias de idade, inoculado pelo saco da gema com suspensão bacteriológicamente estéril de tecido nervoso de camundongos previamente infectados. A presença do vírus nos embriões inoculados, foi revelada pelas inoculações intracerebrais no camundongo.

Patogenicidade do vírus isolado para animais de laboratório

O período de incubação do vírus nas espécies de animais inoculados variou de 10 a 26 dias. Os animais, inicialmente mostravam-se excitados, sobrevindo a paralisia em uma fase posterior. Verifica-se pelo Quadro 2, que a amostra de vírus foi patogênica para cobaio, coelho e hamsters. O título do vírus em camundongos adultos e lactentes, foi de $10^{-3.50}$.

Comportamento da vacina em animais de laboratório

Pelo Quadro 2, constata-se que a vacina foi letal para cobaios e coelhos, sendo o seu título em camundongos de $10^{-5.37}$ para os lactentes e de $10^{-5.59}$ para os adultos.

O período de incubação da doença nos coelhos inoculados pela via intracerebral foi de 7 dias, já pela via intramuscular, o período mínimo de incubação foi de 17 dias.

Os Quadros 3 a 6 expressam a idade, o sexo, a raça e o período de incubação, bem como, os primeiros sintomas apresentados pelos bovinos doentes.

O Quadro 7 demonstra os bovinos que adoeceram e se recuperaram totalmente.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A vacinação dos animais na fazenda onde ocorreu o acidente de vacinação estudado no presente trabalho, decorreu do fato de ter sido diagnosticada a raiva em propriedades vizinhas à fazenda. A vacina utilizada foi a vacina com vírus rábico modificado, vacina Flury, contendo vírus de baixa passagem, conforme ficou demonstrado pelos resultados obtidos nas inoculações em camundongos adultos e lactentes.

QUADRO 1. Soro neutralização em camundongos

Virus isolados de bovino (amostra n.º 1330)	Título em DL ₅₀ /0,03ml	Resultado n.º de DL ₅₀ neutralizados
Virus + Salina.....	—3.30 10	
Virus + Soro N. Carneiro.....	—2.50 10	0 (zero)
Virus + Soro imune do Instituto Estadual de Veterinária, Est. Guanabara.....	—1.0 10	199

QUADRO 2. Inoculação da amostra de vírus 1.330, e da vacina em animais de laboratório

Animais inoculados	Diluições	Coelhos			Cobaieas			"Hamsters"			Camundongos	
		1:5	1:25	1:125	1:5	1:25	1:125	1:5	1:25	1:125	8 dias	21 dias
Mat. 1.330 ^a	I. M. ^e	3/4 ^a	2/4	4/4	2/2	3/3	3/4	2/4 ^o	1/4 ^o	0/4	—	—
	I. C. ^d	5/6	2/3	3/4	4/4	3/3	3/3	—	—	—	10-3-50	10-3-50
Mat. Vacina ^b	I. M.	1/2	0/2	—	3/3	2/3	—	—	—	—	—	—
	I. C.	2/2	2/2	—	4/4	4/4	—	—	—	—	10-5-3	10-5-50

^a Amostra de vírus isolado de bovino, proveniente do local do acidente.

^b Vacina da Prefeitura do Distrito Federal.

^c I. M. = inoculação pela via intra-muscular.

^d I. C. = inoculação pela via intracraniana.

^e N.º de animais mortos/n.º de animais inoculados.

^f Os títulos em camundongos representam DL 50%, calculados pelo método de Reed & Muench.

QUADRO 3. Animais que adoeceram

N.º de ordem	Raça	Sexo	Meses de idade	Data da vacinação	Período de incubação	Sintomas do 1.º dia
1	Nelore	Macho	14	1.5.56	11 dias	Incoordenação de movimentos
2	"	Fêmea	3	23.4.56	11 "	" " "
3	"	Macho	9,5	1.5.56	11 "	" " "
4	"	"	9	1.5.56	11 "	" " "
5	"	"	14	1.5.56	11 "	" " "
6	"	Fêmea	1,5	1.5.56	11 "	Torticolo " "
7	"	Macho	14	1.5.56	11 "	Incoordenação de movimentos " "
8	"	"	9	1.5.56	11 "	" " "
9	"	"	9,5	1.5.56	11 "	" " "
10	"	"	14	1.5.56	11 "	Torticolo " "
11	"	Fêmea	3	23.4.56	11 "	Incoordenação de movimentos

QUADRO 4. Animais que adoeceram

N.º de ordem	Raça	Sexo	Meses de idade	Data da vacinação	Período da incubação	Sintomas do 1.º dia
12	Nelore	Macho	8,5	26.4.56	12 dias	Torticolo, incoordenação de movimentos, sialorréia
13	"	"	6,5	26.4.56	12 "	Torticolo
14	"	"	9	26.4.56	12 "	Incoordenação de movimentos
15	"	Fêmea	7,5	26.4.56	12 "	" " "
16	"	"	5	26.4.56	12 "	" " "
17	Guzerat	Macho	9,5	26.4.56	12 "	" " "
18	Nelore	"	4	1.5.56	12 "	" " "
19	"	"	8,5	26.4.56	12 "	Torticolo, incoordenação de movimentos, sialorréia
20	"	Fêmea	5	26.4.56	12 "	Incoordenação de movimentos
21	"	"	7,5	26.4.56	12 "	" " "
22	"	Macho	6,5	26.4.56	12 "	Torticolo
23	Guzerat	"	9,5	26.4.56	12 "	Incoordenação de movimentos
24	Nelore	Fêmea	1,5	1.5.56	12 "	" " "
25	"	Macho	4	1.5.56	12 "	" " "

Vacinaram-se bovinos nas mais diversas idades, variando de um mês até a idade adulta, ora na tábua do pescoço, ora na região posterior do corpo. Além dos bovinos, foram também vacinados eqüídeos, que não demonstraram a menor reação à vacina.

O período de incubação apresentado pelos bovinos doentes, variou de 11 a 30 dias. Os sintomas clínicos observados, traduzidos por incoordenação de movimentos, fraqueza das pernas, torcicolo, paresias e sialorréia, demonstravam sempre o comprometimento do sistema nervoso (Figs. 1 a 4).

QUADRO 5. Animais que adoeceram

N.º de ordem	Raça	Sexo	Meses de idade	Data da vacinação	Período de incubação	Sintomas do 1.º dia
26	Nelore	Fêmea	7,5	26.4.56	13 dias	Incoordenação de movimentos
27	"	"	8	26.4.56	13 "	"
28	"	Macho	9	26.4.56	13 "	"
29	"	Fêmea	7,5	26.4.56	13 "	"
30	"	"	8	26.4.56	13 "	"
31	"	"	8	26.4.56	15 "	"
32	"	"	8	26.4.56	15 "	"
33	"	"	7	26.4.56	16 "	"
34	"	"	19	23.4.56	16 "	"
35	"	"	7	26.4.56	16 "	"
36	"	"	19	23.4.56	16 "	"
37	"	"	8	26.4.56	17 "	"
38	"	"	25	23.4.56	17 "	"
39	"	"	9	23.4.56	17 "	"
40	Guzerat	"	19	23.4.56	17 "	Torcicolo
41	Nelore	"	25	23.4.56	17 "	Incoordenação de movimentos
42	Guzerat	"	19	23.4.56	17 "	"
43	Nelore	"	8	26.4.56	17 "	"
44	"	"	9	23.4.56	17 "	"

QUADRO 6. Animais que adoeceram

N.º de ordem	Raça	Sexo	Meses de idade	Data da vacinação	Período da incubação	Sintomas do 1.º dia
45	Nelore	Fêmea	6	14.5.56	18 dias	Incoordenação de movimentos
46	"	"	6	14.5.56	18 "	"
47	"	Macho	6,5	26.4.56	20 "	Tristeza
48	"	Fêmea	Adulta	26.4.56	20 "	"
49	"	Macho	6,5	26.4.56	20 "	"
50	"	"	Adulta	26.4.56	20 "	"
51	"	Fêmea	46	1.5.56	23 "	Excitação, sialorréa
52	"	"	9,5	23.4.56	30 "	Tristeza

QUADRO 7. Animais que adoeceram e se recuperaram

N.º de ordem	Raça	Sexo	Meses de idade	Data da vacinação	Período da incubação	Sintomas do 1.º dia
1	Nelore	Macho	10	1.5.56	12 dias	Incoordenação de movimentos
2	Guzerat	"	5	26.4.56	13 "	"
3	Nelore	"	13,5	1.5.56	13 "	"
4	"	Fêmea	33	1.5.56	13 "	"
5	"	"	8	26.4.56	14 "	"
6	"	"	7,5	26.4.56	16 "	"
7	"	Macho	1	1.5.56	16 "	"
8	"	Fêmea	18	23.4.56	17 "	"
9	Guzerat	"	26,5	23.4.56	17 "	"
10	"	"	9,5	23.4.56	17 "	"
11	Nelore	"	26	23.4.56	18 "	"
12	"	Macho	7,5	26.4.56	18 "	Paralisia dos posteriores
13	"	Fêmea	5,5	26.4.56	18 "	Pêlos arrepiados, sialorréa

Num total de 483 bovinos e 26 eqüideos vacinados adoeceram 52 bovinos, morrendo 39 e se recuperando 13, dentro do período de 30 dias. Os índices de morbidade e letalidade entre os bovinos, foram de 8,07% e 10,7%, respectivamente.

Isolaram-se 17 amostras de vírus rábico, das suspensões de encéfalo (cérebro, cerebelo e bulbo) e 17 amostras, das suspensões de medula cervical, por inoculações intracerebrais no camundongo adulto e lactente.

O estudo da infecciosidade de uma das amostras de vírus isoladas (amostra 1.330), foi realizado no cobaio, coelho e hamsters. Estes animais mostraram-se sensíveis à inoculação intramuscular e intracerebral do vírus. A amostra 1.330, mostrou-se ainda, fá-

cilmente adaptável ao embrião de galinha de 7 dias de idade, inoculado no saco da gema, demonstrando ser uma amostra de vírus rábico modificado.

A amostra de vacina, proveniente do local do acidente ao ser inoculada no coelho e no cobaio, determinou a morte destes animais com sintomas rábicos.

A presença de vírus no sangue de bovino, não pôde ser evidenciada neste experimento. Entretanto, Koprowski e Cox (1948b), inoculando a amostra Flury, pelo saco da gema em embrião de pinto de sete dias de idade, recuperaram o vírus do sangue no 3.º e 15.º dias; após inoculação por passagens intracerebrais no camundongo.

A presença de inclusões semelhantes aos corpúsculos de Negri, não foi evidenciada em vários esfregaços de cérebro de 10 bovinos, nem nos cortes histológicos do encéfalo e da medula de 29 espécimes estudados. Todavia, estas inclusões apareceram nas células nervosas dos camundongos, coelhos e cobaias, inoculados experimentalmente com a amostra 1.330, isolada do local do acidente, contrariando até certo ponto as observações de Steele (1955), em um caso de acidente de vacinação pelo vírus Flury, em gato. O agente, não determinou o aparecimento de corpúsculos de Negri nos animais experimentalmente inoculados e a infecção do saco vitelino pelo agente e as provas de soro-neutralização, foram os indícios de que se achava presente um vírus rábico modificado semelhante à amostra Flury.

No presente estudo, concluímos pelos resultados das pesquisas realizadas, estarmos diante de um acidente de vacinação ligado à aplicação de uma vacina com vírus rábico modificado.

AGRADECIMENTOS

Consignamos os nossos agradecimentos ao Dr. Jefferson Andrade dos Santos, Professor Catedrático da Escola Fluminense de Veterinária, Niterói, pelos estudos histopatológicos realizados nos diferentes materiais nervosos; ao Dr. Waldemar da Silva Passos, pela doação de soro anti-rábico hiperimune e ao Dr. Acácio Miguel de Széchy, pelas valiosas informações no decorrer da realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- Batson, M. S. 1960. Allergic reaction to rabies vaccine (apparent allergic reactions in two dogs following vaccinations with chicken rabies vaccine). *J. Am. Vet. Med. Ass.* 136(9):448-449.
- Bier, O. 1961. *Bacteriologia e Imunologia*. 10.^a ed. Edições Melhoramentos, S. Paulo, p. 821-822.
- Camargo, F. N., Velasquez, A., Vasquez, F. V., Giron, A. T. & Flores, F. 1953. La Vacunación contra el derriengue con el virus Flury avianizado. Publicación de la Secretaria de Agricultura e Ganaderia, México, D.F.
- Fox, P. J., Koprowski, H., Black, J. & Gelfand, H. M. 1957. Study of antirabies immunization of man. Observations with HEP Flury and other vaccines with and without hyperimmune serum, in primary and recall immunizations. *Bull. Org. Mond. Santé* 17:869-904.
- Gomez, C., Black, J. & Koprowski, H. 1955. Rabies in cattle. III. Comparative studies on vaccination of cattle in Colombia with Flury virus and chloroform inactivated vaccine. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 127:360-363.
- Koprowski, H. 1955. Rabies in cattle. II. Review of immunization of herbivorous animal against rabies. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 127:359-360.
- Koprowski, H. & Black, J. 1950. Studies on chick embryo adapted rabies virus. II. pathogenicity for dogs and use of egg adapted strains for vaccinations purposes. *J. Immunol.* 64(3):185-196.
- Koprowski, H. & Cox, H. R. 1948a. Occurrence of rabies virus in the blood of developing chick-embryos. *Proc. Soc. Biology* 68:612-615.
- Koprowski, H. & Cox, H. R. 1948b. Studies on chick embryo adapted rabies virus. I. Culture characteristics and pathogenicity. *J. Immunol.* 60(4):533-554.
- Koprowski, H., Black, J. & Nelsen, D. J. 1954. Studies on chick embryo adapted rabies virus. VI. Further changes in pathogenic properties following prolonged cultivation in developing chick embryo. *J. Immunol.* 72(1):94-106.
- Leach, C. N. & Johnson, H. N. 1940. Human rabies, with especial reference to virus distribution and titer. *Am. J. Trop. Med.* 20:335-340.
- Randall, J. F. 1955. A practitioner's experience with rabies vaccines. *Vet. Medicine* 50(7):322-324.
- Reed, L. J. & Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty cent end-points. *Am. J. Hygiene* 27:493-497.
- Schroeder, C. R., Black, J., Burkhart, R. L. & Koprowski, H. 1952. Rabies in cattle. I. Prevention chick embryo adapted rabies. *Vet. Medicine* 47:502.
- Schwab, M. P., Fox, J. P., Conwell, D. P. & Robinson, I. A. 1955. Avianized rabies vaccination in man. *Bull. Org. Mond. Santé* 10:823-835. *In Bull. Inst. Pasteur* 53(2):315.
- Starr, L. E., Glover, T. B., Browsley, C. L. & Routh, C. F. 1954. Antirabic immunization of cattle in Georgia using virus vaccine of chick embryo origin. *Vet. Medicine* 59(9):366-402.
- Steele, J. H. 1955. Problemas de la lucha contra la rabia. *Bol. Of. San. Panam.* 39(5):469-477.
- Vaughan, J. B. & Gerhardt, P. 1961. Isolation of Flury rabies vaccine virus from the salivary glands of a cat. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 139:221-223. (*Vet. Bull.* 31:3947)

ANTIRABIC VACCINATION ACCIDENT IN CATTLE (FLURY STRAIN)

Abstract

The authors studied an antirabic vaccination accident on a Zebu cattle breeding farm in the former Distrito Federal, to day State of Guanabara. The cattle had been vaccinated with avianized rabies vaccine elaborated with modified rabic virus (Flury strain), low egg passage.

There were vaccinated 483 and 26 horses. Of these, 52 bovines got sick, of which 39 died and 13 recovered.

Post-mortem examinations were performed on 29 animals. Inoculation of brain and cervical spinal cord suspensions intracerebrally were made in adult and baby mice, and 17 strains of rabic virus were isolated.

One of these isolated strains (material 1.330), was pathogenic for rabbits, guinea-pigs and hamsters, which had been inoculated intramuscularly and intracerebrally.

The titer of the virus strain in baby and adult mice was $10^{-3.50}$ LD₅₀ by intracerebral route, with 0,03 ml. This virus strain grew well in seven days old chick-embryo, when inoculated by yolk-sac route.

The vaccine, which caused the accident, was also inoculated in laboratory animals. The vaccine contained low egg passage virus. The vaccine was lethal for baby and adult mice, rabbits and guinea-pigs, which had been inoculated intracerebrally and intramuscularly. They died showing rabic symptoms.

Ten blood samples collected at the onset of the disease were inoculated in mice. No virus could be shown in the circulating blood.

The identification of the isolated agent was determined by the serum-neutralization test and by its ability to grow well in chick-embryo. This indicates a modified rabic virus.