



# Etapas da produção da vacina antivariólica no Instituto Butantan

*José Amaral do Prado<sup>1</sup>*

A vacina era uma preparação liofilizada e, portanto, mais resistente ao calor, podendo ser utilizada em lugares onde o clima e a falta de recursos não seriam entraves para a sua manutenção. O vírus *Poxvirus officinalis*, fundamental para a produção da vacina, era cultivado na pele de animais adquiridos pelo Instituto Butantan. Esses animais serviam como incubadores para a reprodução do vírus até o ponto final de coleta da polpa vacínica. Após este período o estrato seria centrifugado, tratado, liofilizado e finalmente disponibilizado em pequenos frascos para a sua distribuição pelo mundo.

## Inoculação do vírus

O primeiro passo consistia na inoculação do vírus-semente através da escarificação na pele do animal para que pudesse ocorrer a multiplicação viral aumentando assim a quantidade destinada à produção da vacina. Isto poderia ser facilmente visualizado através da erupção vesicular na pele de coelhos ou das pústulas

---

<sup>1</sup> Seção de Liofilização de Soros e Vacinas da Divisão de Desenvolvimento Tecnológico e Produção do Instituto Butantan.

reprodutivas formadas sobre a membrana corioalantóide do embrião de galinhas.

### O cultivo do vírus e a preparação do animal

O Instituto Butantan, desde o início da produção de suas vacinas, utilizou vitelas para cultivar o vírus na epiderme deste animal. Ela era contida numa mesa especial para que fosse realizada a raspagem do pelo e higienização da área destinada ao processo de constituição da vacina (Fig. 1).

Após a higienização do campo operatório era feita a escarificação da epiderme do animal, com instrumento especial para a inoculação do vírus-semente, aplicado por toda a área delimitada com o auxílio de uma escova esterilizada (Fig. 2).

Uma vez inoculada a linfa-semente, o campo era protegido com avental esterilizado para evitar a contaminação do animal (Fig. 3).

Os animais, após inoculação, eram transferidos para uma sala de incubação onde permaneceriam por noventa e seis horas em baias individuais, e sobre estrados de madeira para facilitar a eliminação das excretas. Sua alimentação consistia de água e ração balanceada granulada para evitar poeira (Fig. 4).

Após o período de incubação era feita a coleta da polpa por curetagem dos fragmentos da pele lesionada (Fig. 5).

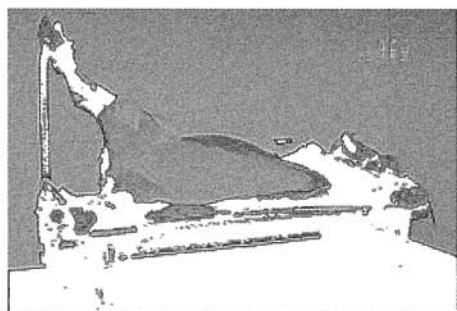


Figura 1 - Vitela depilada.



Figura 2 - Escarificação para a inoculação da semente.

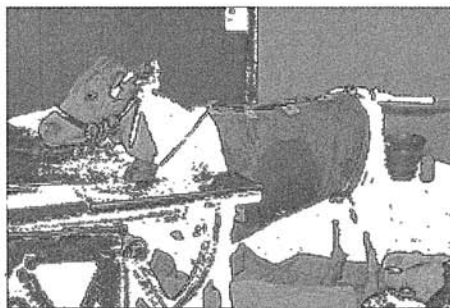


Figura 3 - Animal inoculado com avental protetor.

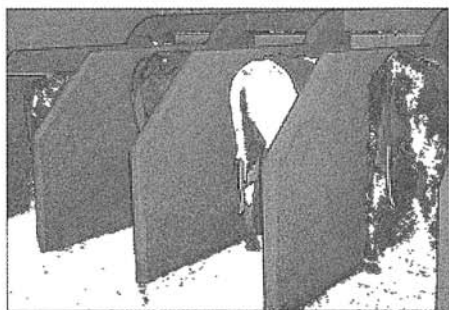


Figura 4 - Vitelas nas baias para a incubação do vírus.



Figura 5 - Coleta por curetagem.

### O cultivo do vírus na epiderme de ovinos

O Instituto Butantan adotou, a partir de 1970, o método de produção através do cultivo do vírus vacínico na pele de carneiros, uma vez que esses animais ofereciam vantagens não encontradas nos bovinos, pois apresentavam facilidade no manuseio, custo reduzido, e maior potência.

Os carneiros eram tosquiados por meio de equipamento elétrico e logo em seguida lavados com água morna e sabão neutro. Finalmente eram recolhidos em um salão contendo baias individuais onde permaneciam até o dia da inoculação. Os demais pro-

cedimentos eram semelhantes àqueles empregados para as vitelas (Figs. 6 A, B, C, D e E).

### Preparo da vacina (Figs. 7 A, B e C)

1. Trituração da polpa em solução tampão fenicada para destruição de bactérias;

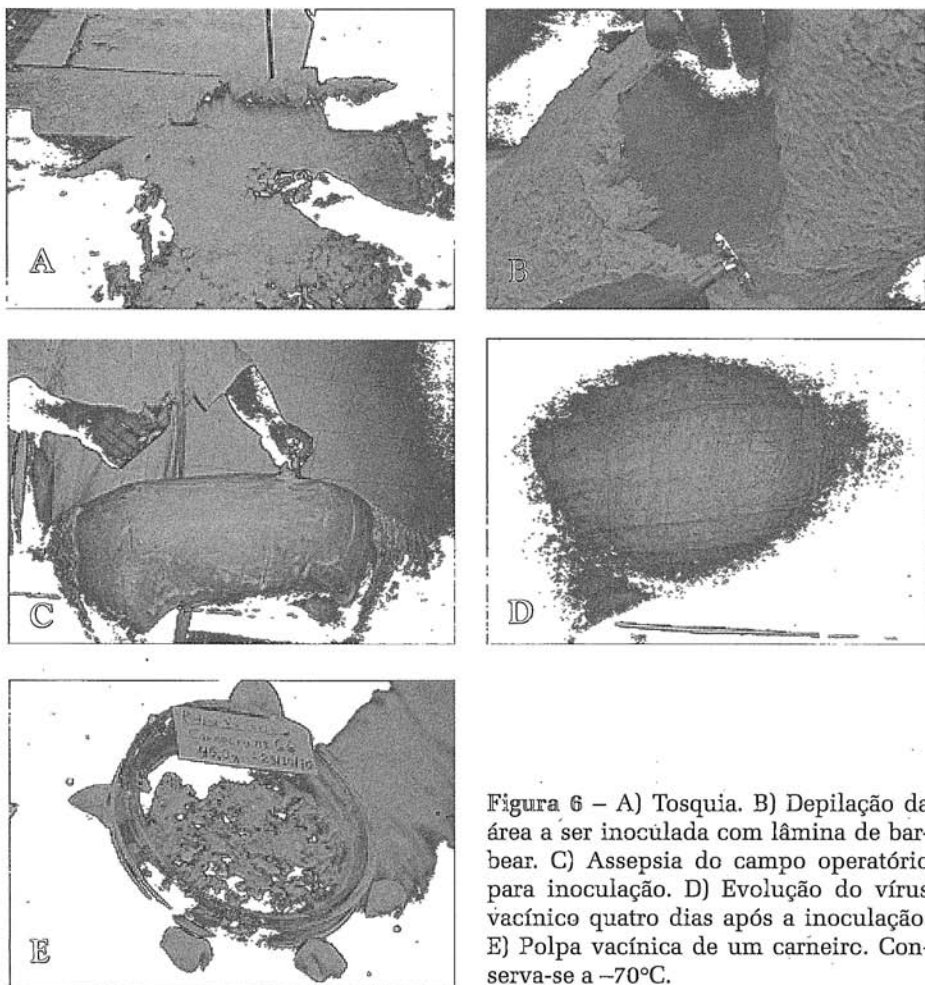


Figura 6 – A) Tosquia. B) Depilação da área a ser inoculada com lâmina de barbear. C) Assepsia do campo operatório para inoculação. D) Evolução do vírus vacínico quatro dias após a inoculação. E) Polpa vacínica de um carneiro. Conserva-se a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

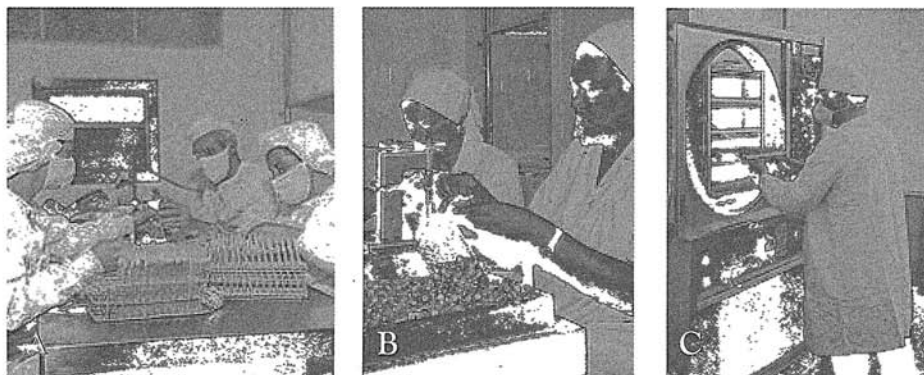


Figura 7 – A) Envase da vacina em tubos. B) Vacina líquida em frasco-ampola sendo introduzida no liofilizador. C) Frascos de vacina liofilizada sendo lacrados.

2. centrifugação à baixa rotação para eliminar os fragmentos de tecidos e bactérias;
3. concentração do vírus por centrifugação em alta rotação;
4. diluição do sedimento em tampão com peptona para melhor conservação durante a liofilização;
5. envase;
6. congelamento da vacina a  $-70^{\circ}\text{C}$  em frascos ou tubos;
7. liofilização do produto;
8. lacração dos frascos.

Durante a preparação da vacina eram realizadas provas de controle bacteriano, inocuidade, potência e outras, as quais eram repetidas no produto liofilizado.

### Teste de potência

Consiste na inoculação de diluições do vírus em m.c.a. (membrana córion alantóide) dos ovos embrionados com doze dias de idade incubados a  $38^{\circ}\text{C}$  (Fig. 8).

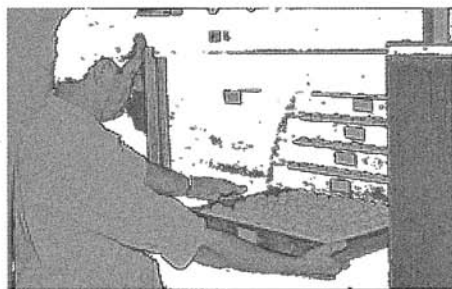


Figura 8 – Incubação de ovos férteis de galinha com 85% de umidade residual.

### Titulação do vírus vacínico em m.c.a. de embrião de galinha

Os ovos selecionados após a ovoscopia eram marcados a lápis com um o ponto de inoculação sobre a casca, o qual não poderia estar próximo aos vasos sanguíneos (Figs. 9 A e B e 10).

### Vacina na cápsula

A data de vencimento para utilização da vacina liofilizada não poderia ser superior a três anos a partir da última titulação do

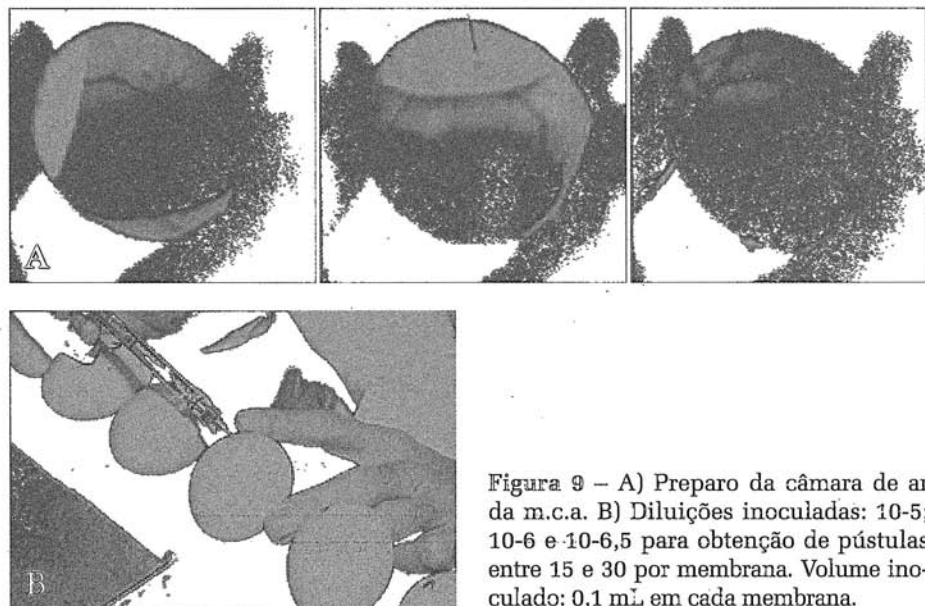


Figura 9 – A) Preparo da câmara de ar da m.c.a. B) Diluições inoculadas: 10-5; 10-6 e 10-6,5 para obtenção de pústulas entre 15 e 30 por membrana. Volume inoculado: 0,1 mL em cada membrana.

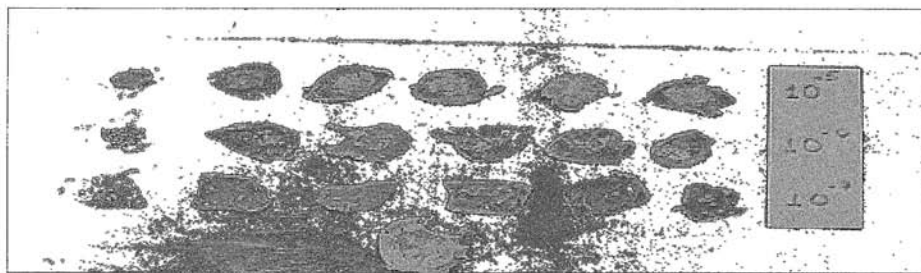


Figura 10 – Membranas córion-alantóides inoculadas com diluições da vacina mostrando pústulas. O título da vacina é calculado pela média das pústulas contáveis. Título mínimo recomendado pela Organização Mundial de Saúde:  $1 \times 108,0$  UI/mL

vírus. Depois de liberada pelo Instituto Butantan a data limite para a sua utilização também não deveria ultrapassar o período de um ano (Fig. 11).



Figura 11 – Frasco de vacina liofilizada com ampola de diluente.

### Referências Bibliográficas

- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – A saúde no mundo. *Revista da Organização Mundial da Saúde*. Fev./Mar., 1975.
- ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE – *Normas para o diagnóstico de laboratório da varíola para uso dos programas de erradicação da varíola*, 1970.
- INSTITUTO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA DR. “CARLOS MALBRAN” – *Método para la producción y control de vacuna antivariolosa*. Buenos Aires, Julio, 1968.
- COMMAUGHT MEDICAL RESEARCH LABORATORIES – *Production Method For Dried Smallpox Vaccine*. October, 1967.
- VELLINI, L. L. – *A varíola bovina (cow-pox) e o preparo da linfa vacínica no Estado de São Paulo*. Dissertação. São Paulo, 1957.