

## VACCINAREA ANTIPOLIOMIELITICĂ CU VIRUS VIU

E. Băcilă, C. Ciocîrlie, V. Iavorovschi

Pentru problemele de imunoprofilaxia poliomielitei există o vastă documentație privind vaccinarea cu virus poliomieltic inactivat. Literatura de specialitate despre vaccinarea cu vaccin conținând tulpini vii de virus a acumulat în ultimul timp un material teoretic și experimental destul de bogat pentru a se putea trece în practică la vaccinarea în masă, acțiune de altfel pe cale de a se executa în mai multe țări. Odată cu aplicabilitatea practică a acestei noi metode, s-au ivit însă discuții de un interes deosebit.

Primele încercări reușite de imunizare experimentală cu virus poliomieltic viu atenuat datează din anul 1924 și aparțin lui *Larson* și *Mc. Kinley*, ele urmînd lucrărilor mai vechi, din 1910, ale lui *Flexner* și *Lewis* care stabiliseră că maimuțele nu se pot vaccina cu virus poliomieltic omorît, dar că virusul viu administrat intra- sau subcutanat le crează o stare de imunitate definitivă dar inconstantă.

Cercetările au fost continuate experimental pe maimuțe obținîndu-se rezultate inconstante și neconcludente, de către *Aycock Brodie* (cu doze subletale de virus administrat subcutanat, respectiv intradermic), de *Randall* și colab. (amestec de virus poliomieltic cu virus vaccinal), de *Olitsky* și *Cox* (reducerea virulenței poliovirusului prin soluție 2% tanin), de *Rule* etc.

*Kolmer* a făcut experiențe de imunizare a maimuțelor cu vaccin din virus atenuat, preparat după o serie de pasaje multiple, dintr-o emulsie 1/25 de măduva spinării de maimuțe într-o soluție 1% de ricinoleat de sodiu (proprietate dezintoxicantă) din care a administrat cîte 0,5 cmc pe kg-corp animal. După efectuarea acestora el a trecut în 1933 la încercări pe copii, vaccînd 25 prin administrare subcutanată de 3 doze (0,25; 0,50 și 1 cmc.) după vîrstă — 0,06 — 0,1 cmc pe kg-corp la interval de cîte o săptămînă, constatînd o imunizare rapidă cu eficiență în 80—90% cazuri fără apariția infecției sau a reacțiilor mari postvaccinale generale și locale. Cercetările ulterioare ale lui *Schultz* și *Gebhardt*, apoi ale lui *Olitsky* și *Cox* de verificare a eficienței vaccinului *Kolmer* au dus la concluzia că acesta nu constituie un agent imunizant pentru maimuțe față de boala experimentală.

Din cele 3 metode de vaccinare experimentală a maimuțelor, preconizate și existente inițial — doze subinfectante de virus, imunizare cu virus activ sub protecția anticorpilor și virus inactivat — primele două au fost abandonate rapid ca periculoase mergîndu-se pe linia virusului inactivat care a culminat prin vaccinul preparat după metoda *Salk* în 1953 și care și-a găsit justificarea în vaccinarea a sute de milioane de persoane pînă în prezent.

Acumulîndu-se noi date privind modificarea virusului poliomieltic în raport de diferite suporturi — gazdă, de diferitele căi de contaminare, de folosirea noilor tehnici introduse în practica laboratoarelor de virologie ca și de aspectele multiple negative prezentate de vaccinul *Salk*, s-a căutat în continuare posibilitatea obținerii unei tulpini avirulente de virus poliomieltic, utilizabilă pentru imunizarea activă umană. Acest vaccin viu neparatogen care peroral ar reproduce mecanismul procesului imunizării spontane naturale, trebuie să corespundă atît dezideratelor imuno-epidemiologice cît și unor avantaje economic-practice. Pe lîngă siguranța nenocivității vaccinului viu, a eficienței lui înalte preventive și a creării unei imunități solide și îndelungate, el trebuia să mai dispună de o metodă simplă de administrare în masă (o singură administrare perorală cu toate cele trei tipuri de virus cunoscut) și de posibilitatea păstrării lui îndelungate în condiții cît mai accesibile. Avantajele economice sînt ilustrate deocamdată de faptul că din rinichi unei maimuțe se poate prepara vaccin omorît pentru 500 copii, iar vaccin viu pentru 50.000 copii, prețul de cost fiind aproximativ 5 ruble, respectiv 10 copeici (*Smorodintev*).

Obținerea tulpinilor avirulente, modificate sau adaptate experimental, necesare introducerii lor în practica vaccinurilor a constituit perioada de studiu cea mai dificilă și îndelungată în care s-au angajat mulți cercetători. În această direcție s-a mers pe trei căi. Unii cercetători au căutat să influențeze activ caracterele biologice ale virusului prin atenuarea tulpinilor virulente, în așa grad ca ele să poată servi la prepararea vaccinului. Astfel s-a reușit, prin metoda adaptării simple sau combinate, să se obțină o serie de tulpini ce își pierdeau virulența (activitatea neurotropă) pentru maimuță și om. S-au împrumutat procedee tehnice din domeniul preparării vaccinului antirabic, antivariolic sau contra febrei galbene, s-au elaborat apoi altele noi, căutându-se adaptarea virusului pe țesut extraneural. În urma lucrărilor inițiate de *Enders, Wheller și Robbins* s-a căutat adaptarea virusului poliomieltic pe S.N.C. al animalelor nereceptive sau slab receptive, ca șoareci, șobolani de bumbac (*Armstrong, Koprowski, Li-Schaeffer*), pe hamsteri (*Moyer, Accorti, Cox, Reagan și colab.*), pe iepuri (*Blanc și Martin*), pe embrioni de găină (*Roca-Garcia, Cox, Jervis, Kobasso, Koprowski*), pe țesut renal de maimuță (*Sabin*), pe culturi de testicol de maimuță (*Ledinko și colab.*) pe culturi de fibroblaste derivate din testicol de maimuță (*Scherer și Syverton*), pe culturi de țesut nervos de embrion uman (*Sabin și Oliitsky*), pe testicol uman adult (*Smith și colab., Syverton și colab.*), pe țesut testicular de maimuță și piele de maimuță (*Li și Schaeffer*) pe rozătoare și embrion de găină (*Koprowski*) etc.

Ca rezultat al acestor cercetări s-a reușit obținerea unor tulpini care au intrat în compoziția vaccinului Sabin (LSC cinci 2 ab și Leon—KP—34—12 a,b) și a lui Koprowski (SM și MEF—1).

Alți cercetători, începând cu lucrările lui *Cox*, au mers pe linia izolării tulpinilor vaccinante din tulpini circulante în condiții naturale (îndeosebi de la purtătorii sănătoși din zonele neepidemice) prin verificarea ulterioară a virulenței, purificare și selecționare. Ca urmare a acestor cercetări s-a reușit să se obțină unele tulpini care au intrat în compoziția vaccinului Sabin (P—712) și *Koprowski* (*Fox* 1949).

Bazați pe aceste rezultate, numeroși autori au trecut la folosirea vaccinului viu în practica umană. Astfel vaccinul lui *Blanc* și *Martin* de la Institutul Pasteur din Maroc a fost administrat intramuscular cu rezultate satisfăcătoare în 1948 la 21 voluntari, în 1952 la 320 copii și adulți iar în 1953 peroral la 10.000 copii între 1 lună — 17 ani din regiunea Africii de nord-vest. Cu tulpina atenuată L—Sc (tip 1.) în doze de  $10^{7.4}$  TCD<sub>50</sub>, *Horstmann* a imunizat peroral 20 copii între 4—18 ani dintr-o instituție închisă de întirziiați mintali, constatând că din 13 persoane de contact 12 s-au infectat cu această tulpină. După experiențe preliminare pe animale *Verlinde* a vaccinat în 1958 40 persoane cu cele 3 tipuri de virus în 3 doze la interval de o săptămână, observând după 15 zile la 2 vaccinați o foarte slabă creștere a neurotropismului tipului 3. *Roca-Garcia* în 1956 a vaccinat peroral 18 copii cu tulpina MEF-1 pasată de 71 ori pe embrioni de găină, constatând o inocuitate completă a vaccinului. După repetate încercări *Dick* și *Dane* au constatat o creștere a anticorpilor neutralizanți la 77—90% vaccinați cu un titru al virusului în fecale, la unii copii, ce atinge  $10^4$ — $10^{6.4}$  TCD<sub>50</sub> și nu au putut trage o concluzie privind stabilitatea tulpinilor atenuate în urma pasajelor prin intestin uman. Alți autori ca *Mayer, Cox, Enders* etc. obțin de asemenea rezultate satisfăcătoare.

În practica actuală cele mai cunoscute și răspândite sînt cele două vaccinuri vii cunoscute sub denumirea de vaccinul lui *Koprowski* și vaccinul lui *Sabin*.

Vaccinul *Koprowski* începând cu anul 1950, cînd a fost administrat peroral la 20 adulți voluntari sub formă de emulsie de creier și măduva spinării de șobolan de bumbac conținînd virus viu atenuat (tulpina Brockman, de tip 2, devenită TN după adaptare pe rozătoare) în ciocolată cu lapte sau sirop de pomb și pină în prezent a suferit și mai suferă încă o serie de modificări utilizîndu-se acum următoarele tipuri de virus: tipul 1. tulpina „SM” în doze de  $10^{-3}$  TCD<sub>50</sub> obținută din tulpinile Mahoney și Seild în urma a 28 treceri succesive pe creier de șoarece, 11 treceri pe embrioni de găină și încă 5 treceri pe culturi de celule în monostrat pentru purificare după metoda *Dulbecco și Vogt*.

Tipul II. — tulpina „MEF-1” obținută de *Roca-Garcia, Jervis* și *Cox* în urma a 119 treceri succesive pe creier de dihor și 71 treceri pe embrioni de găină,

Tipul III. tulpina „Fox 1149” izolată de Fox din fecalele unui copil fiind apatogenă prin inocularea intracerebrală la maimuță și ulterior purificată de Koprowski după metoda *Dulbecco și Vogt*.

Vaccinul *Sabin* e cel mai răspândit în lume și este considerat pînă în prezent ca cel mai bine fundamentat științific. *Sabin* a elaborat criteriile de atenuare a tulpinilor de virus poliomieltic ce le precizează virulența („spectru de activitate neurotropă” sau paralitogenă) și care stau la baza alegerii tulpinilor în vederea preparării vaccinului. Aceste criterii se rezumă la capacitatea virusului de a se multiplica în tractul intestinal uman, producînd o infecție strict localizată, la apariția anticorpilor serici după vaccinare perorală, la incapacitatea lui de a provoca viremie și la imposibilitatea intensificării virulenței (activității neurotrope) după eliminare din intestin odată cu materiile fecale. După operațiile preliminare de selecționare și purificare a tulpinilor de virusuri *Sabin* s-a fixat la următoarele tipuri:

Tipul I. — tulpina „LSC cinci 2 a b” obținută în 1954—55 de *Li și Schaffer* din varianta „c” a tulpinii Mahoney (LSC) și trecută ulterior pe culturi de țesuturi simiene iar apoi purificată de *Sabin*.

Tipul II. — tulpina „P—712, Ch 2 a b” a fost izolată inițial de *Fox și Hellanț* iar apoi purificată de *Sabin*.

Tipul III. — tulpina „Leon—KP—34—12 a, b” izolată în 1937 în laboratorul lui *Melnick* și apoi trecută rapid de *Sabin* de 34 ori pe culturi de țesut renal simian și în urmă purificată.

Aceste tulpini au fost predate în 1956 laboratoarelor de cercetări *Merk, Schare și Down* pentru prepararea unor serii de vaccin viu, care după controalele de rigoare pe culturi de țesuturi și animale de laborator, au fost folosite de *Sabin* pe 100 adulți voluntari cu rezultate satisfăcătoare și ulterior trimise diferitelor țări pentru studiu și utilizare în practică.

Spre a evita fenomenul interferenței atât *Koprowski* cît și *Sabin* au folosit monovaccinuri administrate separat (în doze de 0,01 ml. într-o lingură de lapte, sirop etc.) și într-o anumită succesiune (1+2+3, sau 2+1+3 după *Barr* și colab. sau 1+3+2 după *Verlinde* și colab., la intervale de 2—3 săptămîni astfel că întregul proces al imunizării dura 8—10 săptămîni.

Alegerea metodei de administrare perorală a vaccinului viu constituie rezultatul cercetărilor care au evidențiat receptivitatea crescută a tractului gastro-intestinal uman, articulîndu-se cu crearea imunității locale și generale și fără a se observa o alegere selectivă a particulelor virale mai neutrope. *Koprowski* e de părere că vaccinul omorît acționează central asupra mecanismului de apărare a organismului contra infecției, pe cînd vaccinul viu acționează central și local.

Datele publicate de *Skovorank, Jacek* și alții arată că în Cehoslovacia s-au vaccinat cu succes, în decembrie 1958, 143.000 copii cu vaccin *Sabin*; în Malaiia, după *Hale și colab.*, s-au vaccinat 200.000 copii cu o putere de protecție a vaccinului de aproape 95%; în Congo în 1957—58 s-au vaccinat 244.596 locuitori fără a se observa vreun accident vaccinal. *Verlinde* vaccinează în Leiden, iar *Ramos Alvarez și F. Gomes* în Mexico.



Cele mai vaste experiențe au fost realizate în U.R.S.S., sub îndrumarea lui *Smorodintsev și Ciunakov*.

În R. P. Ungară a fost aplicat vaccinul de tip *Sabin*, fabricat în U.R.S.S., după o prealabilă experimentare a vaccinului Salk (*Bakács* 1960).



După cum se știe cele mai mari dificultăți care au împiedicat utilizarea largă a vaccinului peroral s-au legat de problema posibilității reversiunii tulpinilor vaccinate atât în organismul uman individual, cît și în colectivitate. Aceste probleme au apărut în mod constant, deși s-a arătat la început numai pe contingente limitate — că administrarea vaccinului nu produce nici chiar o boală ușoară.

Prin cercetările efectuate pe scară largă la Moscova de către *M. P. Ciumakov* și la Leningrad de *A. A. Smorodintsev*, s-a stabilit că reversiunea este practic exclusă, atât în organismul individual cât și în colectivitate. Datorită acestei constatari s-a stabilit inocuitatea preparatului în cazul utilizării lui în masă, înlăturându-se implicit pedica principală în calea experimentării largi a vaccinului viu împotriva poliomielitei.

Datele amănunțite asupra lucrărilor executate și condițiile prelunțate ale acestora au fost examinate în mai 1959, la Conferința Institutului pentru Poliomielită al Academiei de Științe Medicale a U.R.S.S., și la ședința plenară a secțiunii din Moscova a Societății micro-biologilor, epidemiologilor și specialiștilor în boli infecțioase, la care au fost prezentate rapoartele lui *A. B. Sabin*, *M. P. Ciumakov* și *A. A. Smorodintsev*. Rezultatele comunicărilor susținute la aceste ședințe, lucrări realizate pentru prima dată în astfel de proporții de masă, au arătat atât *inocuitatea* deplină și *aracivitatea* a vaccinului viu cât și înalta lui eficacitate imunologică, punând de asemenea baza determinării eficacității sale epidemiologice. *V. M. Idanov* ministrul sănătății adjunct al U.R.S.S., a arătat la aceste conferințe că factorul principal la alegerea preparatului pentru profilaxia poliomielitei îl constituie asigurarea sănătății copiilor și nu considerentele financiare asupra pierderilor legate de încetarea utilizării unui preparat produs anterior. *În cursul anului 1960 și dacă e posibil în prima jumătate a acestuia trebuie să se imunizeze cu vaccinul viu întreaga populație a Uniunii Sovietice până la vârsta de 15 ani!*

Experiențele din U.R.S.S. și din R. P. Ungară arată că vaccinul viu atenuat (peroral) se poate aplica cu succes și în plină epidemie și că nu se observă nici un efect negativ în aceste împrejurări.

Într-o lucrare recentă (1960) *A. B. Sabin* subliniază că vaccinul peroral a fost inofensiv pentru milioane de inoculați, care nu au avut anticorpi specifici ca și pentru cei nevaccinați contactați cu vaccinații! El mai arată că la cei vaccinați cu vaccin viu atenuat se pun în evidență anticorpi specifici într-un procent mai ridicat de cazuri, într-un titru mai ridicat și mai precoce, decât în cazul utilizării vaccinului Salk. În sfârșit *Sabin* stabilește să la persoanele contacte, anticorpii se produc paralel cu prepararea anticorpilor de către persoanele vaccinate. — astfel încât se imunizează pe cale latentă, și persoanele contacte!

*A. B. Sabin* a remarcat valoarea deosebită a colaborării internaționale. El a comparat rezultatele anului 1959 în problema profilaxiei poliomielitei cu rezultatele anului geografic internațional (1958).

Noi ducem mai departe această comparație: dacă sovieticii au întrecut în anul 1959 pe capitaliști în domeniul astrofizicii și al cercetărilor atomice pașnice, apoi prin realizările lor experimentale în masă, efectuate cu vaccinul antipoliomielitic, au câștigat recunoașterea lumii științifice medicale din întreaga lume.

Potrivit celor mai recente date, în U.R.S.S. au fost vaccinate în anul 1959 aproximativ 13 milioane de persoane, iar pentru anul 1960 s-au planificat 80 milioane de vaccinări cu vaccinul viu atenuat pe cale perorală.

*Sosit la redacție: 15 ianuarie 1960.*