MARTHA MARIA MUTTI PEREIRA

EFEITO PROTETOR DA VACINA BCG ADMINISTRADA PELAS DIFERENTES VIAS.

Monografia apresentada à Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Departamento de Prática de Saúde Pública, para obtenção do Título de Mestre em Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. João Pessoa de Paula Carvalho.

SÃO PAULO

1978

A minha mãe:
pelo carinho e incentivo

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. João Pessoa de Paula Carvalho, pela sábia e constante orientação.

Ao Dr. Bruno Soerensen, pela amizade, incentivo, compreensão e apoio na execução deste trabalho.

Ao Dr. Roberto Brolio, pelo incentivo demonstrado.

A todos os colegas do Instituto Butantan, pela cooperação que tornou possível a realização deste trabalho.

RESUMO

Entre as doenças infecto-contagiosas, a tuberculose continua sendo uma das mais prevalentes no mundo, principalmente nos países subdesenvolvidos e estima-se que 50% da população mundial esteja infectada pela doença.

A vacina BCG é uma das armas mais poderosa para combater tão grave problema. O BCG tem sido empregado largamente em vários países, utilizando-se diferentes vias de administração: oral, intradérmica e percutânea.

Com base em pesquisa bibliográfica, estudou-se a proteção conferida pela vacina BCG administrada pelas diferentes vias, em ensaios experimentais e achados clínicos no homem.

Entre as principais conclusões, verificou-se que parece não existir uma via de administração mais eficiente que outra, o que parece existir são determinantes para escolha de certos procedimentos, embora a via recomendada pela O.M.S. seja a intradérmica.

SUMMARY

Among the infectious and contagious diseases tuberculosis remains as one of the most prevalent in the world having a high incidence in underdeveloped countries. It is estimated that 50 per cent of the world population is infected by this agent.

The BCG vaccine is one of the most efficient tool available to solve such a serious problem and has been largely used in various countries. Different routes of administration, i.e. oral, intradermic and percutaneous has been used.

On the basis of the review of the literature it was evaluated the protection promoted by the BCG vaccine given through different routes both in experimental trials and clinical findings in man.

Among the most important conclusions obtained from this review it was verified that there is not one route of administration more efficient than another, but it seems that there are determinants in the choice of certain procedures, although the W.H.O. recommends the intradermic route.

Í N D I C E

1. INTRODUÇÃO	1
2. VACINA BCG	
2.1. Generalidades	4
2.2. Cepas	6
2.3. Imunidade	8
2.4. Padronização	13
3. VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DA VACINA	
3.1. Via Oral	18
3.2. Via Intradérmica	22
3.3. Via Percutânea	32
4. DISCUSSÃO	42
5. CONCLUSÃO	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1. INTRODUÇÃO

Entre as doenças infecto-contagiosas, a tuberculose continua sendo uma das mais prevalentes no mundo, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Aproximadamente, metade da população está infectada. Em países em desenvolvimento os serviços médicos são inadequados e escassos, a má nutrição e o baixo nível sócio-econômico são comuns, sendo a tuberculose predominante e não controlada.

O problema da tuberculose é maior em regiões com baixo padrão de vida e entre as classes menos privilegiadas economicamente. Muitos fatores, em vários graus, convertem a infecção em doença. As pessoas nos países subdesenvolvidos têm susceptibilidade individual alta. Estão também associadas com a diminuição de resistência a infância, a puberdade, a gravidez e a nutrição deficiente. (18)

A vacinação BCG é uma das armas mais poderosa para combater tão grave problema.

A vacina tem sido estudada e usada em campanhas e ensaios, desde que Calmette e Guérin vacinaram uma criança em 1921 contra a tuberculose, pela primeira vez.

Depois do advento da vacina, pequenos ou grandes estudos controlados foram realizados no mundo, sendo os mais significativos um conduzido na Inglaterra, três nos Estados Unidos e um no Sul da Índia. Eles mostraram que a proteção conferida pela vacina variava de 0 a 80%. (68)

Nestes ensaios controlados os problemas apresentados são em parte devido a falta de uniformização nas vacinas utilizadas e particularmente ao pouco conhecimento imunitário da tuberculose e conduta de ensaio. Muitos estudos mostraram que as vacinas foram protetoras, porém apresentavam variações de ensaios para ensaio. Tais variações foram verificadas pela diferença no processo inicial do "screening" tuberculínico, potência da vacina, nível de imunidade natural, incidência de tuberculose e possível "bias" na conduta do ensaio. (73)

Ainda não é possível afirmar definitivamente qual é a cepa apropriada e qual é a dose conveniente que irá dar maior proteção ao homem contra a tuberculose nas várias circunstâncias epidemiológicas e sociais. (68)

É difícil estimar o papel que a vacina desempenha na proteção humana contra a infecção, por causa da impossibilidade de se determinar definitivamente o grau de infecção com o Micobacterium tuberculosis de variada virulência e a resistência natural do indivíduo. (5)

Embora a mais de cinquenta anos o BCG vem sendo utilizado como uma das melhores medidas na campanha antituberculose advogada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e largamente usada hoje em dia, existem ainda lacunas no nosso conhecimento sobre o processo de imunização. (30)

A conversão tuberculínica determinada pela vacina é plenamente satisfatória e a positividade persiste por longos anos ou mesmo de maneira permanente. Embora alergia tuberculínica não signifique proteção à infecção, ela é usada para indicar esse fenômeno.

Quando o BCG foi introduzido na Inglaterra em 1950, na campanha contra a tuberculose, o teste de tuberculina era parte essencial do esquema e somente os não reatores eram vacinados. Aqueles que depois da vacinação eram positivos podiam ser considerados protegidos. Por muito tempo foi considerado inconveniente aplicar-se BCG em pessoas com teste tuberculínico positivo. A hipotética objeção era de que poderia causar severas reações locais e reativar focos tuberculosos entre aqueles já infectados. (9)

Em países com serviço médico adequado é ainda prática fazer o teste tuberculínico antes da vacinação. O teste tuberculínico é omitido nos países onde são requeridas campanhas de BCG em massa.

Hart (49) descreve uma fórmula de aplicabilidade da vacina BCG em uma população estudada:

$$A = \frac{E.U.L.}{100}$$

A = aplicabilidade

E = eficácia de vacinação, isto é, redução da tuberculose atribuída à vacinação naqueles elegíveis para vacinação (tuberculino negativos).

U = taxa de ataque anual a tuberculose por 1000, entre aqueles elegíveis não vacinados.

L = percentagem do grupo de população elegíveis para vacinação.

A utilidade da vacinação em reduzir a incidência da tuberculose depende não somente da redução do ataque nos convertores, mas também das condições epidemiológicas da comunidade. (91)

A decisão de se usar ou não a vacina, não deve ser baseada racionalmente sobre a contraditória evidência de seu efeito protetor. A decisão pode ser feita sobre as bases de necessidade. Se a infecção não tem probabilidade de ocorrer, a espécie de proteção que o BCG conferiria não seria necessária, uma vez que iria confundir um importante achado diagnóstico. A vacina se faz necessária quando existe um alto risco de infecção e quando a fonte de infecção não pode ser controlada ou combatida (65). Citando as recomendações da American Trudeau Society concernente ao BCG, Ramon afirma que a vacinação BCG deve ser aplicada a indivíduos expostos à infecção tuberculosa. Nos Estados Unidos, os métodos clássicos, tais como: descoberta de casos, isolamento, tratamento e o nível sócio-econômico reinante, tem reduzido a morbidade e mortalidade por tuberculose, a taxas extremamente baixas. Um certo número de autoridades médicas desse país acha que a vacinação pelo BCG é superflua, entretanto a citada sociedade recomenda a vacinação BCG para indivíduos particularmente expostos a contaminação, reconhecendo o valor do método. (33). Os argumentos freqüentemente citados contra o uso da vacina incluem: o problema não é de suficiente magnitude; a vacina não é eficiente; a vacina não é segura e a conversão da tuberculina destrói o efeito do teste como ferramenta de diagnóstico da doença. (87)

Vacinação BCG em recém-nascidos é ideal e usada em muitos países. Na Inglaterra o BCG é dado em criança de 12 a 13 anos. Este grupo foi escolhido porque a incidência de tuberculose era baixa nos grupos mais jovens e porque a doença progressiva foi mais comum em adolescentes. Em poucas áreas urbanas com alta incidência da doença, a vacinação é feita no período neonatal. Certos grupos especiais, de alto risco, tais como enfermeiras, técnicos de laboratório e estudantes de medicina são rotineiramente testados no começo do treinamento e vacinados se não forem reatores. (53)

Durante mais de duas décadas, observações clínicas e experimentais indicaram que as vacinas produzidas nos laboratórios do mundo inteiro diferem em várias características, inclusive na sua capacidade de criar resistência no homem à infecção tuberculosa.

A finalidade deste trabalho é verificar com base em pesquisa bibliográfica, a proteção conferida pela vacina BCG administrada pelas diferentes vias em ensaios experimentais e achados clínicos no homem.

Ultimamente a vacinação BCG tem sido realizada, usando diversas vias: oral, intradérmica e percutânea, que são adotadas, diferentemente,

por vários países e regiões. Tal procedimento demonstra que há controvérsias em relação a via ideal de administração. Acreditamos que com este trabalho poderemos evidenciar o que existe de efetivo sobre o assunto.

2. VACINA BCG

2.1. GENERALIDADES

A necessidade do surgimento de um agente profilático foi grandemente sentida, pois focos de infecção tuberculosa persistiam em certas áreas e entre certos grupos, apesar da marcada redução de morbidade e mortalidade da doença na população geral. Várias investigações foram feitas para se obter um aumento de resistência à tuberculose, incluindo-se o uso de frações bioquímicas e produtos metabólicos do bacilo da tuberculose, bacilos mortos por agentes químicos ou físicos e de micobactérias relacionadas viáveis. Nenhum desses agentes deu um aumento de resistência em animais susceptíveis frente à infecção com bacilos virulentos. No entanto, foi observado por diferentes investigadores, eficácia com o uso de diminuto número de bacilos tuberculosos viáveis ou de grande número de organismos viáveis de cepas atenuadas de bacilos tuberculosos. (4)

O fato de ser o bacilo virulento viável capaz de multiplicar se "in situ" e generalizar-se, fez-se perigoso o uso de tais vacinas para o homem. Vacinas preparadas de cepas atenuadas do bacilo tuberculoso são seguras e inócuas para o homem, uma vez que, induz tuberculose primária "in situ" e tende a permanecer localizada ou ser limitada aos nódulos linfáticos regionais.

Smithburn e Lavin (88) usando expor o bacilo tuberculoso a luz ultravioleta verificaram a importância da viabilidade do agente imunizante. Quando bacilos atenuados viáveis eram dados a cobaias, a resistência era aumentada após infecção virulenta. No entanto, quando os bacilos usados como vacina eram mortos não havia aumento de resistência.

Os estudos de Willis (108) e Krause (61) sobre o mecanismo da imunidade da tuberculose, usando cobaias previamente tratados com bacilos tuberculosos atenuados, mostraram que a migração do bacilo H37 Rv do lugar da infecção foi retardado, o desenvolvimento do processo tuberculoso foi diminuído e as lesões tornaram-se crônicas.

Entretanto, coube a Calmette e Guérin (17) em 1908 o privilégio de terem conseguido com completo êxito uma vacina que iria se transfor

mar na maior arma imunoprolática contra a tuberculose. Estes autores usando um bacilo atenuado (BCG), verificaram que animais tratados com esta vacina desenvolviam um aumento de resistência a dose infectante do bacilo tuberculoso virulento.

Calmette e Guérin (80) atenuaram uma cepa de Micobacterium bovis durante 13 anos através 231 passagens em batata baliada e batata glicerinada. A primeira vacinação foi feita pela via oral, em 1921, em Paris, em um recém-nascido.

Embora o BCG fosse de virulência baixa e incapaz de produzir tuberculose progressiva, mesmo administrada parenteralmente, foram surgindo várias controvérsias. As mais importantes são os achados de Petroff, em 1922, nos Estados Unidos, sobre as colônias dissociadas virulentas da cepa BCG e a tragédia de Lubeck. (81)

Muitos investigadores se preocuparam com as questões surgidas.

Birkaug (14) demonstrou em suas experiências que:

- a. o princípio tuberclogênico do BCG é semelhante àquele possuído pelo Bacilo bovino virulento e Bacilo tuberculoso humano;
- b. não se obteve diferenças apreciáveis em cobaios entre a alergia cutânea produzida com tuberculina feita com bacilo tuberculoso virulento e BCG, dissociado em variantes coloniais "R" ou "S" ou associadas. O BCG pode sobreviver no corpo do cobaio por um período de 577 dias depois da inoculação sem mostrar tendência a produzir tuberculose progressiva;
- c. administração em cobaios de grandes doses de variantes "S" dissociada é capaz de produzir lesão tuberculosa localizada, sem produzir tuberculose progressiva.

Somente depois da segunda guerra mundial, os investigadores estiveram de acordo em aceitar que a cepa BCG era de virulência hereditariamente atenuada e que embora não seja estritamente uma cepa fixa, as variações fenotípicas e genotípicas que vão surgindo com o passar do tempo é igual a qualquer cepa bacteriana.

Embora estivesse provada a segurança da vacina BCG, o seu valor protetor para o homem não tinha sido estabelecido firmemente, em virtude dos estudos não terem sido conduzidos sob condições controladas. As principais falhas estatísticas na análise retrospectiva destas experiências estavam na distribuição dos grupos de comparação que não eram realizados ao acaso e na seleção das amostras de tamanho muito reduzido. Com estes conhecimentos se decidiu realizar investigações sobre o problema com bases científicas para se obter uma resposta definitiva sobre a questão existente.

É provável que a eficácia da vacinação não dependesse somente da vacina usada e da técnica, mas também da extensão da superinfecção pelo qual os vacinados são expostos. (80)

2.2. CEPAS

As diferentes cepas de BCG usadas no mundo são todas derivadas da cepa originalmente isolada por Calmette e Guérin e que agora diferem marcadamente nas características morfológicas e culturais, na habilidade de sobrevivência e multiplicação "in vivo" e no seu efeito protetor como agente imunizante.

Foram geradas várias discussões em torno da possibilidade da volta da cepa à virulência original.

Assim é que, cepas utilizadas nos diferentes centros de produção da vacina, mostraram aspectos diferentes. Atualmente a Organização Mundial da Saúde recomenda mantê-las liofilizadas, estabilizando as características próprias de cada uma delas, evitando-se as repicagens periódicas que seriam necessárias a sua manutenção.

As cepas variam com a intensidade e extensão das lesões produzidas pela injeção intraperitoneal em cobaias. Chang (19) verificou em três cepas, diferenças quando inoculadas intraperitonealmente em cobaias e sacrificados após seis semanas. Embora os achados microscópicos na autópsia não mostrassem sinais de tuberculose progressiva, a intensidade e extensão das lesões variaram. Da mesma maneira, segundo Chang (20) e Pierce (79) as cepas estudadas para fabricação de diversas vacinas apresentavam variações de acordo com o método de Jensen na habilidade de produzir lesões locais na pele do coelho, depois de inoculação intradérmica de doses graduadas.

A capacidade alergizante das cepas usadas por Chang (21) mos

trou-se diferente em cobaios usando-se pequenas ou grandes doses de BCG.

Em dois grupos de pessoas foram usados tipos de vacina preparadas com cepas diferentes e o teste de tuberculina mostrou marcada diferença após três meses de observação com positividade de 79,2% e 100%, respectivamente. (54)

Estudos mostraram que as cepas apresentaram características diferenciais quando observadas "in vitro". Cepas cultivadas por mais de dois anos em meio líquido de albumina foram diferentes em muitas das suas qualidades intrínsecas. As culturas das cepas consistiam de populações morfologicamente heterogêneas mostrando três tipos principais de colônias: espalhadas, intermediárias e não espalhadas. A percentagem de distribuição colonial foi característica para cada uma das cepas e permanecia constante durante o cultivo. (93,23)

Segundo Dubos (35) as cepas variam profundamente na duração do tempo em que elas permanecem viáveis no meio de cultura. O tamanho das colônias produzidas são diferenciados nas cepas e influenciadas pela presença de aminoácidos, hidrolisados de proteína, ácido oléico e colesterol no meio básico.

Do ponto de vista morfológico, o comprimento dos bacilos em microscopia de fase, mostraram pequenas diferenças de cepa para cepa. (23)

Cynthia e col. (78) estudando a morfologia colonial de onze cepas, verificaram que as amostras exibiam um padrão de crescimento em serpentina de colônias de bordo plano de expansão semelhante as produzidas por cepas virulentas de micobactérias, em contraste com cepas que cresceram de maneira desorientada, sem bordo da expansão, muito semelhante à das mutantes avirulentas (H37 Ra). A maioria das cepas, foram heterogêneas em vários graus, crescendo concomitantemente diferentes tipos morfológicos em proporção moderadamente constante para cada cepa.

Repetidas experiências com diferentes partidas de vacinas mostraram consistentemente que as cepas de BCG multiplicam-se no cérebro do camundongo em maior ou menor extensão. (22,79)

Usando-se pequenas doses de vacina foram reconhecidas diferenças notáveis na eficácia imunizante de várias cepas de BCG. As cepas mais eficazes se multiplicavam com maior rapidez, provocando imunidade nos animais testados, tanto mais duradoura quando maior a permanência nos tecidos. (24,36)

Pasquier e Kurylowicz (76,77) verificaram diferenças entre animais vacinados com diversas cepas de BCG, em relação ao poder vacinante, após infecção com bacilos tuberculosos bovinos marcados com carbono radioativo.

O hamster é o único animal experimental que apresenta doença evolutiva após infecção com BCG, servindo para avaliar a virulência residual das cepas. Jespersen (59) classifica as cepas pela virulência no hamster em

Forte - Dubos Copenhagen, Rio de Janeiro, Chicago, Paris, Moscou, Dubos Philadelphia e Philadelphia

Média - Copenhagen, London, Gothenburg e Dubos Chicago (2)

Fraca - Dubos Albany e Dubos Chicago

Panisset (10,32,75) classifica as cepas utilizando o poder de multiplicação em camundongos:

1. Copenhagen e Pasteur protege bem, com doses muito fracas.
2. Brasil e Montreal protege bem, mesmo em doses fracas.
3. Tokio protege de maneira mais fraca que as anteriores.
4. Moscou protege fracamente a dose forte e não protege com doses fracas.

Togunova e col. (95) deduziram nos seus estudos com as cepas Russa, Paris e Moreau, que a Paris e a Russa não diferem fundamentalmente nas características morfológicas, culturais e biológicas. A cepa Moreau mostrou-se diferente na morfologia, baixa virulência residual e menor imunogenicidade em experimentos em cobaias. A habilidade de produzir alergia para as três cepas estava dentro dos limites exigidos.

2.3. IMUNIDADE

Quando Roberto Koch descobriu a etiologia da tuberculose foi verificado que a maioria das pessoas se infectavam, porém somente pequena parte manifestava clinicamente a doença e grande maioria apresentava alto grau de resistência.

O mecanismo de produção de imunidade permaneceu obscuro por muito tempo. A princípio, havia discordância, se imunidade e hipersensibilidade retardada eram produzidas por um mesmo mecanismo. Hoje admite-se que

sejam fenômenos que ocorrem paralelamente, porém sem nenhuma relação entre si.

Sabe-se que a hipersensibilidade retardada pode ser transmitida com linfócitos sensibilizados, mas não com soro. Experiências recentes mostraram que soros obtidos de cobaias sensibilizados a tuberculina não conferem a receptores normais a capacidade de responder ao antígeno com reação retardada típica. A figura 1 demonstra a transferência da hipersensibilidade retardada.

Segundo Collins e Mackaness (26) camundongos inoculados com Micobacterium tuberculosis mostravam crescimento destes microorganismos no pulmão, fígado e baço e a sensibilidade tuberculínica aparecia logo, com aumento progressivo para a seguir declinar. Este fenômeno de dessensibilização não foi notado em animais inoculados com número idêntico de BCG, porém ocorreu com maiores doses. Células do baço desses animais e de doadores sensíveis à tuberculina foram capazes de conferir sensibilidade tuberculínica em receptores normais. Ausência de sensibilidade não implica que células acometidas imunologicamente estejam faltando no tecido.

Mackaness (63) sugeriu que os linfócitos timo dependentes, mediadores da sensibilidade tuberculínica são responsáveis pela resistência específica da tuberculose.

A imunidade tanto específica como inespecífica pode ser transferida a um receptor normal através de linfócitos, mas não por macrófagos ou soros de um animal imune, segundo Mackaness (63) como pode ser visualizado na figura 2.

"Parece provável que durante uma reação de imunidade tipo celular, quando linfócitos sensibilizados são estimulados por contacto com o antígeno específico, um dos muitos fatores liberados possa conferir aos macrófagos o poder de destruir organismos ingeridos" (82)

Tolderlund e col. (96,98) mostraram em um modelo experimental em cobaias, ser possível recuperar a sensibilidade tuberculínica por nova injeção, sem que haja recuperação da resistência à infecção. Wells e Wylie(107) em modelo experimental em cobaio, verificaram que há independência dos dois fenômenos.

A hipersensibilidade tuberculínica e o mecanismo de resistência adquirida são fenômenos distintos e dissociáveis, de cuja presença na infecção tuberculosa é meramente fortuita. A abolição da hipersensibilidade por cuidado

Fig. I Transferência da hipersensibilidade celular ou retardada.

Fonte: Bier, O. e col.¹¹

Fig. 2. Transferência de Imunidade específica e inespecífica por linfócitos de um animal imune.

Fonte: Roit, I. M. 82

sa dessensibilização, deixa o mecanismo de resistência adquirida à tuberculose intacto, protegendo significativamente o organismo contra a doença ativa e invasiva. (12)

Hart (99) nos seus trabalhos verificou que a imunidade conferida pela vacinação BCG não depende necessariamente do grau de sensibilidade tuberculínica e indivíduos que não mostraram sensibilidade tuberculínica pós-vacinal, não são menos resistentes à tuberculose que aqueles que desenvolvem um teste positivo.

Recentes estudos mostraram que não existe correlação entre a resposta ao teste cutâneo e a transformação da resposta linfocitária ao PPD (CT 68) e PPD — B medido pelo (H^3) thymidina, quando vacinados com BCG. (94)

O teste tuberculínico embora não signifique proteção, é um índice indicativo de impregnação do organismo pelo bacilo. A medida de hipersensibilidade a tuberculina em indivíduos vacinados é uma técnica conveniente para se estabelecer que a vacina foi tomada, mas infelizmente não dá nenhuma informação do desenvolvimento de imunidade. (34)

Guld (48) achou que o padrão de sensibilidade à tuberculina observado entre os não vacinados difere dos vacinados. Embora as reações dos não vacinados possam ser classificadas, em positivos e negativos de acordo com o tamanho, os vacinados mostram uma distribuição unimodal de forma que tal classificação seria arbitrária. Foi verificado que muitos dos indivíduos vacinados tendem a dar reações positivas e negativas alternadamente a testes sucessivos. É impraticável dividir as pessoas vacinadas em positivas e negativas, principalmente nos países tropicais, onde a presença de sensibilidade não específica, ocasiona teste de tuberculina incerto.

Nyboe (72) verificou que nos países temperados e subtropicais quase todas as reações são claramente positivas e negativas indicando que o teste é altamente eficiente. Nos trópicos uma grande proporção de reações são de tamanho intermediário e a distinção entre as duas reações é difícil. Os seus dados sugerem que a causa das reações intermediárias é devida à exposição maciça da população a certos agentes não identificáveis que produzem reações cruzadas à tuberculina. Nas regiões tropicais uma distinção clara entre tuberculose infecção e não infecção, evidentemente não pode ser feita pelo teste de tuberculina.

Estudos mostraram que o teste de tuberculina pós-vacinal tem somente valor epidemiológico, isto é, determinar o grau de alergia em grupos de pessoas. Este teste concede pouca informação sobre o nível individual, uma vez que diversos fatores incluindo erros experimentais e fatores pessoais não conhecidos, influenciam grandemente a reação. (52)

É muito mais importante conhecer a potência alergênica de uma vacina usada em particular para se julgar o efeito de vacinação, do que o tamanho de uma reação pós-vacinal individual. (99)

Quando monócitos de cobaios ou coelhos são injetados com bacilo tuberculoso e cultivados "in vitro", os bacilos se multiplicam abundantemente dentro do citoplasma dessas células. Em contraste, a multiplicação dos bacilos é retardada ou completamente abolida nos monócitos de cobaios ou coelhos vacinados com BCG. (92)

Foi verificado que cobaios inoculados com uma vacina antituberculosa irradiada com luz ultravioleta mostraram significativa perda de resistência, quando comparado ao grupo de cobaio vacinado com BCG não irradiado, após uma subsequente infecção, com bacilos virulentos. (86)

Rosemberg e Rocha Passos (84) acham que o estado imunobiológico pós-vacinal caracterizado pela ausência de alergia com resposta positiva ao antígeno bacilar integral (BCG — teste), traduz elevada proteção contra a tuberculose. O fato observado de que nesses estados a ausência ou menor incidência de processo patológico específico, em confronto com os que mantêm a alergia, leva a conclusão de que aquela é a situação imunitária mais eficiente.

2.4. PADRONIZAÇÃO

Embora a vacina BCG tenha sido já usada largamente como agente imunizante durante vários anos, permaneciam muitos problemas, na sua preparação e padronização.

É provável que muitas das divergências nos resultados de vacinação deu-se em virtude de que os produtos exibiam diferenças qualitativas e quantitativas na atividade biológica. (37)

Muitos fatores podem afetar a atividade protetora da vacina, tais como:

- a. caracteres biológicos intrínsecos da cepa usada no preparo da vacina,
- b. estado fisiológico das células na amostra da vacina afetada em particular pela idade de cultura no tempo de crescimento e por condições de estocagem, e
- c. o número de células viáveis na dose de vacina injetada. (37)

A aceitação do uso do BCG no mundo enfatiza a necessidade de método seguro uniforme no preparo da vacina. É necessário um método padrão que mantenha um alto nível de organismos viáveis com qualidades alergênicas e imunogênicas.

Um dos testes mais comumente usado para avaliação da atividade da vacina é a habilidade de produzir alergia em cobaios e no homem. A injeção de uma determinada dose é capaz de dar conversão tuberculínica na maioria dos indivíduos vacinados, dentro de poucas semanas. (6,37)

Para Böe (16) as variações nas propriedades alergênicas da vacina são muitas vezes observadas e podem ser causadas pela variação na virulência do BCG ou por variações quantitativas e não pelas diferenças biológicas na composição da bactéria.

Em 1950 o Comitê de peritos em padrões biológicos recomendou uma dose sensibilizante de 5 mg de BCG. É sabido agora que a alergia tuberculínica pode ser produzida por doses muito menores. O grau de alergia à tuberculina foi estudada em relação à dose de BCG administrada. O sucesso do desenvolvimento máximo de alergia está em função da dose usada, sugerindo que o desenvolvimento da alergia e a dose efetiva em cobaios, pode ser usada como critério para avaliar as atividades biológicas de partidas de vacina. Como pode se verificar, a figura 3 mostra a taxa de conversão à tuberculina em função da dose. O número de unidades viáveis inoculadas em cobaios está na abcissa do gráfico. A dose média efetiva, isto é, a dose vacinante que converte 50% dos animais, é estimada em uma diluição de $10^{-5,5}$ da dose padrão. (97)

Jespersen (55, 56, 58) verificou que sensibilidade tuberculínica e imunidade no cobaio dependem da dose da vacina usada e a mais baixa dose que causa essa imunidade é de 10^{-5} mg. A imunidade adquirida nos animais experimentais é a mesma se eles são vacinados intraperitonealmente ou subcutaneamente e a reação tuberculínica é ligeiramente superior nos animais vacinados intraperitonealmente.

De observações clínicas e experimentais foram achados métodos adequados para determinar as características biológicas mais importantes de

Fig.3 Percentagem de cobaios reagentes a tuberculina 5-12 semanas depois da vacinação com doses variadas de vacina.

Fonte: Tolderlund K. e col. 97

uma vacina BCG: sua virulência, potência alergênica e imunogênica.

Segundo Jespersen (57) a virulência de uma vacina pode ser avaliada pela:

- Determinação da habilidade de multiplicação do BCG usando cultura quantitativa de órgão.
(Pierce e col., 1953).
- O método intracutâneo, teste de Jensen
(Jensen, 1946).
- O método do índice omental
(Panisset e Murois, 1953).
- Determinação da virulência da vacina baseada nos achados macroscópicos e microscópicos em animais com grandes doses
(Suter e Dubos, 1951)
(Chang, 1958).
- Determinação da virulência em base a mortalidade de camundongos injetados com grandes doses de BCG e expostos a condições fisiológicas anormais
(Pierce e col., 1956).
- Determinação da virulência pelo tempo de sobrevivência do hamster com grandes doses de BCG
(Jespersen, 1964).

Jespersen (57) relata que a potência imunogênica das vacinas BCG possam ser determinadas pelo:

- Método de cultura
(Dubos e col., 1953).
- Método de sobrevivência
  - em camundongos brancos
(Dubos e col., 1953)
  - em camundongos vermelhos
(Jespersen e Bentzon, 1964)
  - em cobaias
(Jespersen e Bentzon, 1967)
- Método de determinação da potência imunogênica por meio dos achados macroscópicos em cobaias, sacrificados um certo tempo depois da infecção
(Sula, 1963) - (Statens Seruminstitut, Copenhagen, 1965) - (Willis e col. 1960).

Jespersen (57) mostrou que o poder alergênico e imunogênico das vacinas BCG possam ser determinados usando geralmente cobaios, uma vez que, estes animais são mais sensíveis à tuberculina que camundongos.

- Sensibilidade à tuberculina e resistência adquirida em um período pós-vacinal curto

(Chang, 1959)

(Jespersen e Bentzon, 1967).

- Sensibilidade à tuberculina e resistência adquirida em um período pós-vacinal tardio

(Willis e col., 1960).

Na produção da vacina BCG, conforme conhecimentos atuais, deve-se escolher uma cepa que evidencie elevada capacidade protetora em modelos experimentais e com capacidade de induzir sensibilidade tuberculínica dura doura em crianças. Muitos laboratórios deixaram de usar sua própria cepa para produção, alegando que a mesma se havia modificado no curso dos anos. Um importante avanço foi a adoção do "Sistema lote semente liofilizado", garantindo a imutabilidade das cepas.

O propósito da vacina BCG é dar uma resistência ao homem contra a infecção tuberculosa, o que já foi provado ser possível mais efetivamente por meio de bacilos vivos que de mortos. Uma dose de vacina deverá conter um máximo de bacilos viáveis e um mínimo de bacilos mortos. Hashimoto (50) fazendo estudos sobre a vacina BCG liofilizada, mostrou que bacilos mortos produzem um aumento de hipersensibilidade à tuberculina e de reação local.

Hoje com avanços da tecnologia as vacinas liofilizadas são usadas em grande escala, apesar de ocasionar morte inevitável de determinada proporção de microorganismos. Vários açúcares foram experimentados como conservadores porém o glutamato de sódio, introduzido pelos japoneses é agora universalmente adotado, isto devido à termoestabilidade conferida à vacina.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, todo laboratório produtor deverá realizar provas de controle, envolvendo as seguintes fases: identidade - a vacina não deverá conter outro germe que não seja BCG; prova de inocuidade em cobaios - inoculados em cobaios o BCG não deverá provocar tuberculose ou qualquer distúrbio; prova de determinação do peso seco; prova de vitalidade - absorção de oxigênio, germinação, contagem de colônias e termoestabilidade e prova de conversão tuberculínica - a vacina quando inoculada em cobaios deverá induzir alergia tuberculínica.

Os laboratórios produtores de vacina BCG são autorizados e controlados pela O.M.S.

3. VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DA VACINA

3.1. VIA ORAL

A vacinação BCG por via oral no homem foi o método original idealizado por Calmette.

A via de administração oral foi recomendada tendo como base a permeabilidade da mucosa intestinal dos recém-nascidos e a passagem da bactéria que se localizaria e permaneceria nos nódulos linfáticos.

No método original de Calmette os recém-nascidos eram vacinados com três doses "per os" com quarenta e oito horas de intervalo.

No Brasil onde a vacina oral foi usada intensivamente até bem pouco tempo, teve como pioneiro Arlindo de Assis, que estudou exaustivamente este método de vacinação.

A cepa Moreau, foi enviada em 1925 para Arlindo de Assis por Julio Elvio Moreau, auxiliar de Calmette em Paris. É comprovado que a cepa Moreau tem atividade reatogênica menor, porém capacidade imunogênica maior, segundo testes realizados por Panisset e col. (10, 32, 75) em Copenhague não dando nenhuma complicação e servindo perfeitamente para as campanhas de massa. (66)

Congressos nacionais e internacionais de tuberculose e órgãos técnicos da Organização Mundial de Saúde reconheceram o poder protetor da vacinação BCG pelo método brasileiro, admitindo embora que seria necessário um ensaio controlado para comprovação do seu poder protetor, como foi feito para via intradérmica. (83)

Apesar de não ser o método recomendado pela Organização Mundial de Saúde, oferece algumas vantagens:

- a. facilidade prática nas campanhas de vacinação indiscriminada, uma vez que, não apresenta qualquer tipo de reação local e nem complicações de outra natureza como adenopatias;
- b. a preparação da vacina naturalmente é de maior custo, em comparação com o BCG intradérmico, pois a concentração é de 1.000 vezes maior, no entanto fica compensado pela maneira simples de aplicação, dispensando verbas para instrumentação, treinamento e pessoal técnico especializado.

Além disso, o BCG oral se torna mais viável em nosso meio, face à necessidade de vacinação em recém-nascidos, uma vez que, a incidência de tuberculose é elevada nos grupos de baixa idade, com formas graves inclusive meningite, e a dificuldade ou impossibilidade de medidas adequadas para impedir o contágio de crianças em focos intrafamiliar. (83)

Vários trabalhos comparativos sobre vias de administração, utilizando para avaliação o teste tuberculínico, tem comprovado que a vacinação oral dá uma taxa de viragem nunca superior a 40%, enquanto que por outras vias, alcançam até 90%. Isto porém, não demonstra ineficácia da via, uma vez que, a reação de hipersensibilidade retardada não significa proteção, porém índice de verificação de impregnação do organismo pelo bacilo.

Nègre (70) verificou em cobaios que reinfecções sucessivas de BCG favorece a multiplicação destes germes no sistema linfático onde tende a se generalizar, aumentando seu efeito protetor.

Nègre e col. (69) em suas experiências em cobaios demonstraram usando cinco doses de 50 mg de BCG a intervalos de quatro dias, que os animais apresentavam resistência a dose infectante, mesmo que reagissem ou não a tuberculina; reagissem ou não ao BCG teste ou ainda nunca reagissem a tuberculina ou ao BCG teste. Nessa experiência foi mostrado a completa dissociação entre a hipersensibilidade e imunidade.

Gernez-Rieux e col. (43) recuperaram o bacilo administrado pela via oral em cobaios novos, inclusive em cobaios tuberculino positivos, provando a absorção pela mucosa intestinal.

Zeyland e Piasecka - Zeyland (112) isolaram e cultivaram o BCG recuperado de gânglios mesentéricos de três crianças que haviam falecido depois de quarenta dias após vacinação.

Hilscher e Gheno (51), fazendo um estudo comparativo em camundongos entre a via oral (dose única de 100 mg e 10 doses diárias de 100mg) e a via intradérmica não verificando diferenças nos grupos vacinados.

Kreis (62) em uma comparação feita em camundongos entre a via intravenosa e a via oral usando três doses de 10 mg em dias consecutivos e uma revacinação após dez dias, achou imunidade igual nos dois grupos.

Amaral e col. (2) estudando o efeito do BCG oral em cobaios, em relação a tuberculina, constataram que as reações de hipersensibilidade es

tão sensivelmente relacionadas com a quantidade de BCG administrada e que a vacinação aumenta o tempo de sobrevivência dos cobaios na tuberculose experimental.

Soerensen e col. (89) em experimento comparativo por via oral 100 mg e 0,1 mg por via intradérmica, verificaram que a capacidade alergizante era maior quando o BCG foi administrado pela via intradérmica, e a proteção avaliada através da letalidade, ante uma inoculação de prova de grande carga bacilar, não revelou diferença apreciável entre os dois métodos, embora seja nítida a proteção conferida.

Azulay e col. (8) pela administração do BCG, verificaram sensibilização em cobaios, através da velha tuberculina, PPD e lepromina. A sensibilização induzida nos cobaios variavam com a via de administração de BCG, sendo a mais alta com tuberculina na vacinação oral; com PPD na via intradérmica; com lepromina, maior na intradérmica, embora tenha sido mais persistente na vacinação oral.

Gernez-Rieux e col. (45) fizeram uma pesquisa retrospectiva em Roubaix na França em pessoas nascidas de 1925 a 1934 num total de 18.405, sendo que 12.595 não foram vacinadas e 5.810 receberam BCG ao nascer pelo método de Calmette. Com base em observações durante vinte quatro a trinta anos concluíram que a proteção resultou satisfatória durante a infância, adolescência e idade adulta. A mortalidade foi reduzida à metade para os vacinados em relação aos não vacinados como se vê na figura 4.

Rosemberg e col. (83) verificaram o efeito do BCG sobre a reação de Mitsuda. Esta reação tende a se positivar nos indivíduos que vieram a ser vacinados pelo BCG, em alta percentagem, chegando mesmo em certas circunstâncias a atingir 100%.

Hilde Kahn e col. (60) por uma comparação por via oral e intradérmica em crianças recém-nascidas, avaliadas pelo teste de tuberculina, verificaram que não houve diferença significativa entre as duas vias.

A experiência brasileira com vacinação BCG consta de trabalhos que se desenvolveram, durante mais de três décadas, sobretudo em crianças vivendo em ambiente desfavorável do ponto de vista sócio-econômico e em condições epidemiológicas propícias a contrair a tuberculose. A maioria dos observados vivia em contato com tuberculosos, não havendo nenhuma possibilidade de afastá-los do foco contagiante e, em época anterior ao advento da quimio-

Fig 4 Primeiras vacinações antituberculosas de Albert Calmette, em Roubaix, de 1925 a 1934.

Fonte: Gernez - Rieux, CH. e col. 45

rapia antituberculosa. (84)

A tabela 1 mostra os principais inquéritos realizados no Brasil. Pela taxa de morbidade e mortalidade se verifica maior proteção nos grupos vacinados que nos controles. Carvalho encontrou a taxa de mortalidade de 2,1% para os vacinados e 13,2% nos não vacinados; Guedes e col. encontraram 2,0% nos vacinados e 6,7% nos não vacinados; Rosemberg 0% nos vacinados e 26,9% nos não vacinados, em outro estudo encontrou 0,9% nos vacinados e 25,5% nos não vacinados; Nascimento e Alvim achou uma taxa de 0,4% e 3,9% nos vacinados e não vacinados respectivamente.

3.2. VIA INTRADÉRMICA

A vacinação intracutânea foi usada em 1923 na Noruega em Norway por Heim Beck, e na Suécia por Wallgren, em 1927.

A dose e técnica, na vacinação BCG, estão intimamente relacionadas. Não se pode, ainda precisar com exatidão qual a dose máxima para se obter maior proteção no homem.

Usando-se seringa a prova de vazamento, o método intradérmico pode ser considerado o mais preciso, pois as doses da vacina pode ser medida com exatidão. Nas outras vias, há necessidade de usar uma dose muito mais elevada e apenas uma pequena fração se introduz na pele ou se absorve. Principalmente por esta vantagem e por produzir percentagem maior de viragem tuberculínica, foi considerado o método de eleição. A Organização Mundial de Saúde, padronizou e recomendou oficialmente a utilização do método intradérmico de vacinação ("WHO/Unicef Joint Committes on Health Policy, 1965").

Wallgren (106) ao verificar que a percentagem da alergia pós-vacinal era baixa nas crianças suecas que estavam sendo imunizadas por via oral, introduziu a vacinação BCG por via intradérmica, pois pequenas doses (um décimo de mg) conferiam hipersensibilidade tuberculínica quase constante.

Soerensen e col. (89) em trabalho experimental em cobaias, verificaram, pelo estudo comparativo da via oral e intradérmica, usando pequena carga bacilar, que o método intradérmico mostrou-se superior na proteção conferida, avaliada através letalidade.

O valor protetor da vacina BCG foi determinado por Aronson e col. (3) em um grupo de índios nos Estados Unidos e Alaska. Estes autores trabalharam com crianças na idade pré-escolar e escolar selecionadas depois do

Tabela 1 - Índices de Proteção da Vacinação BCG Oral.
Brasil, 1937-1957.

A U T O R E S	Número de Crianças	Doses de B C G	Período de Seguimento	Morbidade Tuberculosa		Mortalidade Tuberculosa	
				Nº de casos	%	Nº de casos	%
Carvalho (1937)	48	3 x 20 mg		10	20,8	1	2,1
Rio de Janeiro	53	testemunhas	5 anos	21	39,6	7	13,2
Guedes e col. (1948)	102	3 x 30 mg		6	5,9	1	2,0
Rio de Janeiro	89	testemunhas	6 anos	19	21,4	5	6,7
Rosemberg (1945)	31	3 x 20 mg	3 a 12	1	3,2	0	0
S. José dos Campos e São Paulo	26	ou 100 mg testemunhas	anos	14	53,8	7	26,9
Rosemberg (1945)	116	3 x 20 mg	2 a 6	-	-	1	0,9
São José dos Campos	51	testemunhas	anos	-	-	13	25,5
Instituto Viscondessa de Moraes Fundação Ataulpho de Paiva. Rio de Janeiro. Assis e col. (1957)	1.207	concorrente	2 a 11 anos	27	2,2	0	0
Favela da Praia do Pinto. Rio de Janeiro. Nascimento e Alvim (1953)	967 257	concorrente testemunhas	2 a 8 anos	- -	3,9 10,5	- -	0,4 3,9
Instituto de Pesquisas Clemente Ferreira São Paulo. Rosemberg e col. (1957)	Neona- tos Outras idades	976 1.505 2.481	concorrente concorrente	2 a 7 2 a 7 anos	0 0 31 31	0 0 2,1 1,25	0 0 0 0

Fonte: Rosemberg, J. e col. (84)

teste tuberculínico negativo incluindo um grupo vacinado por via intradérmica e o respectivo grupo controle. O seguimento foi feito por 15 anos, com avaliação por meio de mortalidade. Verificaram 1.551 pessoas vacinadas e observadas em relação a um total de 21.245,5 pessoas anos, a ocorrência de 12 mortes por tuberculose, o que corresponde a uma taxa de 0,56 por mil pessoas anos de observação. Entre 1.457 pessoas controles observadas num total de 19.520,5 pessoas anos ocorreram 65 mortes por tuberculose, isto é, uma taxa de 3,32 por mil pessoas anos de observação.

Um ensaio de grande monta foi realizado pelo Medical Research Council Tuberculosis Vaccines Clinical Trials Committee. (100, 101, 102 e 103). Este ensaio feito dentro das normas estabelecidas e com todo rigor exigido é considerado um dos principais já realizados no mundo. O efeito protetor da vacina começou a ser determinado na Inglaterra em 1950 usando BCG a "vole bacillus", aplicados em 54.239 jovens, de 14 a 15 anos de ambos os sexos, negativos à reação tuberculínica e avaliados através morbidade durante 15 anos de observação. Os jovens foram classificados em cinco grupos:

- negativos a 100 UT - não vacinados: 12.867 pessoas
- negativos a 100 UT - vacinados com BCG: 13.598 pessoas
- negativos a 100 UT - vacinados com "vole bacillus": 5.817 pessoas
- positivos a 3 UT : 15.704 pessoas deixadas sem vacinação
- negativos a 3 UT e positivos a 100 UT: 6.253 pessoas deixadas sem vacinação.

Os achados de observação durante estes quinze anos são mostrados na tabela 2. Na Seção A foram descobertos 240 casos de tuberculose entre 12.699 tuberculino negativos não vacinados representando uma incidência de 1,28 casos por 1.000. Entre os 13.598 vacinados foram descobertos 56 casos, sendo a incidência anual de 0,28 por 1.000. Na Seção B, 130 casos entre 5.889 tuberculino negativos não vacinados, com uma incidência de 1,50 por 1.000 e 29 entre 5.817 que foram vacinados com "vole bacillus", dando uma incidência 0,29 por 1.000. A Seção C estabelece uma comparação de vacina BCG e "vole bacillus" (todos eles incluídos na Seção A ou Seção B). A taxa anual de incidência foi semelhante, isto é, 0,20 por 1.000 para os vacinados com BCG e 0,26 por 1.000 para os vacinados com "vole bacillus". A incidência anual (por 1.000) de tuberculose foi de 0,28 entre os 13.598 participantes BCG vacinados e 1,28 entre os 12.699 participantes tuberculino negativos não vacinados, dando uma redução de 78,4% comprovando, desta forma, a eficiência da vacinação.

Tabela 2 - Casos de tuberculose, observados durante 15 anos, após administração do BCG e "vole bacillus".
Inglaterra, 1950

S E Ç Ã O	GRUPOS DE ENSAIO	Nº de Participantes.	Casos de Tuberculose		Eficácia Protetora %
			Nº de incidência em 15 anos.	Incidência anual por 1000 participantes.	
A	Crianças dadas BCG e aquelas concorrentemente admitidas com elas	Negativo, não vacinados	12699	240	78,4
		Negativo, BCG vacinados	13598	56	
		Positivo a 3 UT	15514	204	
		Positivo somente a 100 UT	6153	52	
B	Crianças dadas vole bacillus e aquelas concorrentemente admitidas com elas.	Negativo, não vacinado	5889	130	80,8
		Negativo, vacinado com vole bacillus	5817	25	
		Positivo a 3 UT	8783	118	
		Positivo somente a 100 UT	3068	32	
C	Crianças concorrentemente admitidas e dadas BCG ou vole bacillus	Negativo, BCG vacinados	5581	17	0,20
		Negativo, vacinado com vole bacillus	5497	21	0,26

Fonte: Fourth report to the Medical Research Council by its tuberculosis vaccines clinical trials committees. (103)

Observações sobre o efeito protetor da vacina BCG foram feitas por J. Frimodt-Møller e col. (41), no Sul da Índia. Iniciaram em 1950 com avaliação em 1960 por meio de incidência de tuberculose. Foram estudadas 21.556 pessoas com teste de tuberculina, sendo:

- 5.069 - vacinados com BCG - não reatores
- 5.808 - não vacinados (controles) - não reatores
- 9.979 - reatores.

Como se verifica na tabela 3 as lesões notadas por meio de Raio X, indicam 11 casos nos vacinados, 29 casos nos não vacinados e 149 casos nos reatores positivos. A observação dos 11 e 29 casos entre os vacinados e controles respectivamente, correspondem a uma taxa de 2,17 e 4,99 por 1.000. A redução foi de 56% de casos nos vacinados quando comparados com o grupo controle. Como cita o autor o número de casos não é grande e não se pode dar dados mais precisos.

J. Frimodt-Møller e col. (40) em continuação ao estudo na população do Sul da Índia avalia a proteção conferida pelo BCG com cobertura de um período de 21 anos. Foi estudada a mesma população de 21.556 pessoas, assim distribuídas: 11.577 pessoas não reatoras a tuberculina; 5.069 vacinadas, 700 que não permaneceram no ensaio e 5.805 não vacinadas; 9.979 pessoas reatores à tuberculina. Como nos mostra a tabela 4 a incidência de tuberculose avaliada por meio de lesão radiológica foi de 33 para o grupo vacinado, 47 para o grupo controle e de 135 para os tuberculino positivos. O efeito da vacinação foi relativamente elevado nos 9 primeiros anos, em seguida a diferença entre vacinados e não vacinados diminuiu. O efeito protetor em 9 anos de estudo correspondeu a 83%, ao fim de 12 anos 16% e aos 21 anos de 20%.

Em outro estudo realizado no Sul da África (90), na cidade de Pretoria, durante o ano escolar de 1972, com 6.032 crianças de 7-15 anos de idade, foi testado o método intradérmico e o percutâneo, usando diferentes vacinas: Glaxo intradérmico, padrão Glaxo intradérmico Copenhague, Japão intradérmico, Dakar intradérmica, Glaxo percutâneo e Japão percutânea. Como se pode verificar na tabela 5 as crianças testadas pelo Mantoux depois de um período de 10 semanas após imunização, mostrou ser o intradérmico superior ao método percutâneo (multipuntura), dando uma percentagem maior de convertidores à tuberculina.

Como a tuberculose era um problema muito grave em Porto Rico, Palmer e col. (74) iniciaram em 1949 um ensaio dirigido pelo Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos. O estudo foi feito com 191.827 pessoas de 1 a 18 anos de idade. Uma primeira avaliação foi feita com 6 a 7 anos de seguimento com 82.269 reatores e 109.558 não reatores. A incidência de tuberculose nesses primeiros anos foi observada da seguinte maneira:

Tabela 3 - Número total de casos encontrados no ensaio de BCG.

Índia, 1950.

Grupo	Número	Lesão notada subsequente a Rx normal	Lesão vista no primeiro filme avalia_ do	Total	Casos por 1000
Vacinado	5069	6 (3)	5	11 (3)	2,17 (0,59)
Controle	5808	20 (11)	9 (1)	29 (12)	4,99 (2,07)
Positivo	9978	77 (44)	72 (25)	149 (69)	14,93 (6,91)

Nota: As figuras em parênteses indicam casos bacilares.

Fonte: Frimodt-Møller, J. e col. (41)

Tabela 4 - Incidência de casos observados entre pessoas vacinadas e não vacinadas. Índia, 1950.

ANO	Vacinados	Controles	Tuberculino positivos	Total
1951	-	-	-	-
1952	1	1	10	12
1953	1	-	3	4
1954	-	-	6	6
1955	-	2	5	7
1956	-	-	2	2
1957	-	2	17	19
1958	-	5	22	27
1959	-	1	2	3
1960	-	1	3	4
1961	-	2	6	8
1962	1	-	4	5
1963	1	1	1	3
1964	5	5	16	26
1965	7	8	14	29
1966	2	3	3	8
1967	2	6	1	9
1968	2	5	7	14
1969	3	2	4	9
1970	2	1	4	7
1971	6	2	5	13
Total	33	47	135	215

Fonte: Frimodt-Moller e col. (40)

Tabela 5 - Percentagem de convertores a 2 UT de PPD de acordo com o tipo de BCG e método.

Pretoria - África, 1972.

Tipo de BCG e método	Total de crianças com de 5mm de reação (Teste de prevacinação)	Percentagem de convertores 5 mm ou mais	Total de crianças incluídas no estudo . (menos que 9 mm)	Percentagem de convertores 5 mm ou mais
Padrão Glaxo Intradérmico	502	80,7	619	70,6
Glaxo Intradérmico 1331	496	84,9	603	74,6
Japão Intradérmico	521	86,0	624	76,6
Dakar Intradérmico	501	75,2	607	62,1
Glaxo Percutâneo	536	60,6	630	45,1
Japão Percutâneo	501	67,9	623	52,8
Controle Intradérmico	222	16,2	284	8,4
Controle Percutâneo	243	18,5	301	9,3

Fonte: South African tuberculosis study group. (90)

	População estudada	Número de casos	Incidência Média anual por 100.000
Vacinados	50.634	93	29,8
Controles	27.338	73	43,2

A percentagem da redução de tuberculose entre os vacinados foi de 30,9.

Comstock e col. (27) usando a mesma população acima referida estudaram o efeito da vacina BCG em crianças e os resultados foram avaliados somente em 1969, portanto, 20 anos após. Como se verifica na tabela 6, uma população de 50.634 foram vacinadas e 27.338 constituiu o grupo controle, não vacinado. A incidência de tuberculose foi de 186 casos para os vacinados com uma taxa anual média para 100.000 de 19,7 e no grupo controle 141, dando a taxa anual média de 27,6. Embora a vacinação tenha reduzido a taxa de tuberculose de 28,7 entre vacinados, a redução total na tuberculose, que deveria resultar de um programa completo de vacinação foi menor que 9%.

Num estudo feito em crianças esquimós, verificou-se pequena diferença no tipo e no curso clínico da doença no grupo vacinado com BCG e no grupo não vacinado. (111)

3.2.2. VACINAÇÃO POR "JET-INJECTOR"

Nos programas de vacinação em massa, o "jet-injector" pode ser considerado de vantagem operacional sobre a técnica clássica. Existem dois modelos de jet-injector: "dermo-jet" e "ped-o-jet".

Tem sido usado há muitos anos como alternativa em lugar de agulha e seringa para administração de injeção subcutânea e mais recentemente, para aplicação percutânea de vacina contra a varíola.

As principais vantagens de "jet-injector" é ser aceito pelas crianças e seu uso permite em dadas circunstâncias, fazer grande número de vacinações em tempo curto.

Um estudo feito com os dois tipos de "jet-injector" e seringa mostrou que o "jet-injector" não administra a dose completa. Aumentando a dose consideravelmente, os resultados podem ser melhorados, porém aumenta o risco de reações desagradáveis. (31)

Experiência feita com o "jet-injector" em crianças mostrou 64 por cento de reações locais a vacinação e 65 por cento foram negativas ao teste

Tabela 6 - Incidência de tuberculose entre controles e vacinados.

Porto Rico, 1949-1951.

Categoria de estudo	População	Casos por Tuberculose	
		Nº	Taxa média anual por 100.000 *
Controles	27.338	141	27,6
Vacinados	50.634	186	19,7

* Redução da percentagem de tuberculose entre vacinados: 28,7

Fonte: Comstock G.W. e col. (27)

tuberculínico após três meses de vacinação. (110)

3.3. VIA PERCUTÂNEA

Em 1939 Rosenthal introduziu o método percutâneo, que consiste na aplicação da vacina dentro da pele com agulha. Em 1940, Nègre e Bretey na França, descreveram a técnica de escarificação, usando uma lanceta e em 1941 Birkhaug preconizou o uso de um instrumento apropriado à vacinação, apresentando assim nova técnica ao método idealizado por Rosenthal. Assim sendo, podemos considerar três técnicas de aplicação da vacina BCG pela via percutânea: a) escarificação; b) multipuntura e c) agulha bifurcada.

3.3.1. VACINAÇÃO POR ESCARIFICAÇÃO

Nègre e Bretey (71) utilizando a técnica de escarificação vacinou cobaios, usando uma gota de uma vacina com 5 mg/ml de BCG. Verificaram que os animais vacinados tiveram uma positividade à tuberculina de 50% após uma semana de vacinação e de 70% a 80% após um mês. Após injeção subcutânea do bacilo virulento foi comprovado que o fígado e pulmões dos animais vacinados não apresentavam lesões quando comparados ao grupo controle.

Frappier (39) concluiu em experimentos em cobaio, vacinados por escarificação com 60 mg/ml de BCG que a resistência se manifestou do seguinte modo:

- a. 50% de sobrevivência nos vacinados em relação ao grupo controle;
- b. diminuição considerável do grau médio das lesões tuberculosas, nos animais previamente vacinados; e
- c. uma redução dos nódulos de superinfecção virulenta nos vacinados em relação aos animais controles.

Foi feito pelo Instituto Pasteur de Lille (44) um levantamento epidemiológico no período de 1948 a 1971 para avaliar a proteção conferida pela vacina BCG administrada por escarificação. Desta maneira, 15.168 crianças vacinadas em idade escolar foram comparadas a um grupo de crianças não vacinadas, sendo 3.169 não reatoras e 4.175 reatoras. Como pode se verificar pela figura 5, os resultados encontrados mostram proteção pós-vacinal de 73,2% no período de 20 anos de observação, sendo 54,5% por tuberculose pulmonar e 83,6% por outras formas de tuberculose. Durante o período de

Fig. 5 Taxa de proteção durante os vinte anos seguintes da vacinação B.C.G.

Fonte: Gernez-Rieux, CH. e col.⁴⁴

observação, a taxa de proteção da seguinte maneira:

Período de cinco anos após vacinação	Taxa de proteção %
0 - 4 anos	89,1
5 - 9 anos	68,1
10 - 14 anos	53,0
15 - 19 anos	51,4
	82,3
	76,5
	73,2

3.3.2. VACINAÇÃO POR MULTIPUNTURA

Rosenthal (85) considerando a via oral não digna de confiança, apesar de aplicação fácil, a via subcutânea dar abcesso profundo; a intracutânea produzir lesão local usualmente supurativa e aumento dos nódulos linfáticos preconizou o método da multipuntura. Com esta finalidade o referido autor estudou grupos de crianças, vacinando um pelo método da multipuntura com uma gota de vacina (1 ml = 5mg de BCG) usando um aparelho de 35 agulhas; outro grupo através injeção intracutânea (0,1 ml ou seja 0,038 mg) mantendo um grupo controle sem vacinar. Posteriormente foi verificada a conversão tuberculínica assim na tabela 7 os resultados mostram que o método de multipuntura de 99% e 100% de reações positivas à velha tuberculina, após três meses e um ano de vacinação. Concluiu que a vacinação pelo método da multipuntura dá resultados tão bons quando a intracutânea, além de não dar reação local intensa, supuração de nódulos linfáticos ou cicatriz, sendo um método de fácil aplicação para vacinação em massa.

Birkhaug (13) em trabalho experimental em cobaio verificou que usando 15 ou mais punturas na pele com 20 mg/ml de BCG produzia uma alergia a tuberculina mais rápida e intensa. A maior sensibilidade e resistência foi produzida por 40 punturas.

A eficiência de um método de vacinação BCG está na dependência da introdução de número suficiente de organismos viáveis no organismo do indivíduo, para produzir uma resposta imunitária suficiente. No método intradérmico, a dose pode ser controlada, na percutânea não, fazendo-se necessário a padronização da técnica e instrumento. (13)

Em Cardiff, na Inglaterra (46) foi feita uma experiência usando seis tipos de aparelhos diferentes. Após doze semanas de vacinação, a

Tabela 7 - Resultados da vacinação BCG em crianças.

Estados Unidos, 1939

Número de casos em observação	467
Número de vacinação	235
A. Por multipuntura	133
B. Por injeção intracutânea	102
Número de controles	232
Número de teste de Mantoux	448

Resultados após 3 meses	Número	Positivo %
A. Multipuntura	97	99
B. Intracutânea	64	98,4
C. Controles	154	0

Resultados após 1 ano	Número	Positivo %
A. Multipuntura	30	100
B. Intracutânea	25	100
C. Controles	46	2,2

Fonte: Rosenthal, S.R. (85)

lesão local estava cicatrizada ou indetectável e nesta oportunidade a conversão tuberculínica foi baixa. Três fatores poderiam ter contribuído para esta baixa conversão: insuficiência da pressão manual sobre o aparelho durante a vacinação; depósitos aderentes na agulha impedindo sua passagem na parte final do aparelho e dano em um dos instrumentos.

O número de impactos suficientes a uma vacinação foi estudado com um aparelho idealizado no Instituto Merieux, recomendando a seguinte técnica: até um ano de idade - 2 impactos; de um a dez anos - 1 a 6 impactos; acima de dez anos - 4 a 6 impactos. (38)

Em Staffordshire, Cardiff e Sheffield, na Inglaterra (7), foi feito em 3.200 crianças uma vacinação por multipuntura usando dois tipos de aparelhos: uma com agulhas fixas e outra com um disco de agulhas descartáveis. Com o disco de agulhas descartáveis o resultado ao teste de tuberculina foi mais baixo, quando comparado ao método intradérmico.

Foram vacinados recém-nascidos de Hong Kong usando aparelhos diferentes com pessoal treinado e não treinado e submetidos a teste tuberculínico para avaliação em comparação com o método intradérmico. Na figura 6 pode se verificar pelos resultados apresentados, que o método da multipuntura, mostra uma viragem tuberculínica comparável ao método intradérmico. (1)

Comstock e col. (29) avaliaram em 20 anos a proteção da vacinação BCG em 11.262 escolares em Muscogee County, Georgia. A vacinação foi feita por multipuntura em crianças com menos de 5 mm de reação ao PPD 5 UT e 100 UT. Seis meses mais tarde, as mesmas foram testadas com tuberculina PPD e as não reatoras eram revacinadas. Nos 20 anos de seguimento, como se vê pelos resultados apresentados na tabela 8 foram descobertos 47 casos de tuberculose, como média anual por 100.000. Em todo o estudo, conforme os dados, a taxa foi mais alta nos negros que nos brancos. Para ambas as raças, a taxa foi mais alta aos reatores a 0,1 μ g PPD não existindo diferenças significativas entre as taxas dos outros subgrupos. Nos vacinados a taxa de casos de 16,8 por 100.000 por ano foi mais alta que no grupo controle, que foi somente de 10,7. Estes achados indicam que o risco de adquirir a infecção foi muito baixa, em Muscogee County nesses 20 anos e que a proteção que a vacinação deveria ter conferido foi pelo menos aparentemente inexistente.

Comstock e Palmer (28) estudaram uma população de 64.000 pessoas durante um período de 14 anos em Muscogee County, Georgia e Russel County, Alabama. Todos os participantes do ensaio foram testados com tubercu

Fig. 6 Distribuição da frequência relativa do tamanho da reação tuberculínica a 100 UT e 5 UT por métodos de vacinação.

Fonte: Allan, W.G.L. e col.¹

Tabela 8 - Taxa de tuberculose definida por 100000 pessoas anos de observação pela tuberculina inicial

Condição de vacinação e grupo étnico.

	Total	Reatores a 0,1 μ g PPD	Não reatores a 0,1 μ g PPD			
			Reatores a 2,0 μ g PPD	Nº testado com 2,0 μ g PPD	Não reatores a 2 μ g PPD	
					Controles	Vacinados
Total						
Pessoas ano	130.805	18.661	45.447	8.950	27.967	29.830
Casos	47	29	7	3	3	5
Taxa*	35,9	155,8	15,4	33,5	10,7	16,8
Branco						
Pessoas ano	86.850	6.864	30.324	5.840	21.155	22.667
Casos	8	5	0	1	1	1
Taxa*	9,2	72,8	-	17,1	4,7	4,4
Negro						
Pessoas ano	43.955	11.747	15.123	3.110	6.812	7.163
Casos	39	24	7	2	2	4
Taxa*	88,7	204,3	46,3	64,3	29,4	55,8

* Casos por 100.000 pessoas ano.

Fonte: Comstock, G.W. e col. (29)

lina PPD 5 UT e os não reatores, com menos de 5 mm de reação, vacinados por multipuntura. O efeito protetor da vacina entre os não reatores, foi obtido diretamente comparando a incidência de tuberculose entre o grupo vacinado e controle (tabela 9). No grupo controle foram encontrados 32 casos com uma taxa de incidência anual de 12,8 por 100.000 e nos vacinados, 26 casos com uma taxa anual de 11,0 por 100.000. A redução de tuberculose entre os não reatores vacinados foi de apenas 14,2%.

No Japão, em 1967, substituíram a vacinação intradérmica pelo método da multipuntura depois de dez anos de estudo de vacinação BCG percutâneo, usando um cilindro plástico com agulhas finas, fixadas na parte final do aparelho. A vacina usada tem a concentração de 80 mg de BCG seco e é reconstituída com 1 ml de solução fisiológica, quantidade esta suficiente para 30 vacinações. Uma gota de vacina é espalhada no braço em uma área de 15 x 30 mm e são feitas duas pressões separadamente dando um total de 13 pun turas. O método foi testado em recém-nascidos e avaliado pelo Mantoux, em um ano de seguimento. Como mostra a tabela 10, a taxa de conversão tuberculínica com 14,0 mm de diâmetro foi de 89,5, com um caso somente de aumento de nódulo linfático. Não houve formação de queloides e as cicatrizes desapareceram em 40% das crianças um ano depois da vacinação. (50)

3.3.3. VACINAÇÃO BCG PERCUTÂNEA POR MEIO DE AGULHA BIFURCADA.

O método da agulha bifurcada oferece inúmeras vantagens. Esta técnica parece não causar complicações e produz uma cicatriz muito leve, podendo ser usada em vacinação de massa. Um ensaio, com BCG 80 mg/ml e 160 mg/ml dado pelo método percutâneo, usando a agulha bifurcada recomendada pela Organização Mundial de Saúde foi comparada ao método intradérmico. Ao teste de Mantoux os resultados foram comparáveis usando 160 mg/ml. (105)

Paralelamente, através do trabalho de Moddie e Chang (67) em 1965 e Christensen e col. (25) em 1966, parece não haver perda do poder imunizante do BCG e da vacina antivariólica quando dada simultaneamente em dois lugares diferentes.

Em muitas partes do mundo a saúde das crianças é constantemente ameaçada pela tuberculose e varíola. A técnica da agulha bifurcada poderia ser utilizada, para as duas citadas vacinas, o que traria uma economia

Tabela 9 - Incidência de tuberculose entre controle e vacinados.

Estados Unidos, 1950.

Categoria Estudada	População Estudada	Número de casos	Média Anual de Incidência por 100.000
Total			
Controles	17.854	32	12,8
Vacinados	16.913	26	11,0
Redução de percentagem de tuberculose entre vacinados: 14,2			
Branco			
Controles	12.702	14	7,9
Vacinados	11.788	7	4,2
Redução de percentagem de tuberculose entre vacinados: 46,1			
Negro			
Controles	5.152	18	25,0
Vacinados	5.125	19	26,5
Redução de percentagem de tuberculose entre vacinados: (-6,1)			

Fonte: Comstock, G.W. e col. (28)

Tabela 10 - Resultados do teste de tuberculina e lesão de vacinação durante um ano de seguimento em recém-nascidos.

Japão, 1967

Tempo depois da vacinação por multipuntura	3 meses			6 meses			1 ano		
	Nº testa- do	Positivo * %	Diâmetro médio (mm)	Nº testa- do	Positivo * %	Diâmetro médio (mm)	Nº testa- do	Positivo * %	Diâmetro médio (mm)
Reação Tuberculina	114	78,1	11,4	114	85,1	14,5	114	89,5	14,0
Lesão de vacinação	Nº testa- do	Com cica- triz %	Nº médio de cica- triz	Nº testa- do	Com cica- triz %	Nº médio de cica- triz	Nº testa- do	Com cica- triz %	Nº médio de cica- triz
	114	96,5	16,3	114	87,7	12,4	114	59,7	7,4

* Reações com 10 mm de diâmetro ou mais.

Fonte: Hashimoto, T. (50)

de pessoal, um mínimo de equipamento e um máximo de conveniência administrativa. Portanto, a agulha bifurcada usada na administração da vacina antivariólica poderia ser usada na aplicação do BCG.

Um ensaio foi feito para se determinar o número de golpes de agulha na administração e a concentração ótima da dose. Neste trabalho foi verificado que uma vacina concentrada 20 vezes mais que a vacina clássica intradérmica, administrada com 20 golpes de agulha dá resultados inferiores que a vacinação intradérmica. Inclusive a técnica de utilização da agulha influi sobre os resultados, assim a técnica clássica (agulha vertical no mesmo ponto de impacto) dá resultados inferiores à técnica modificada (agulha oblíqua em pontos diferentes), pois com esta variante se obteve uma reação tuberculínica significativamente melhor. (42)

Um ensaio de imunização de vacina BCG feito pelo método percutâneo, usando agulha bifurcada recomendado pela Organização Mundial de Saúde foi comparado com o método de aplicação usando o aparelho Heaf e o intradérmico. A reação tuberculínica pós-vacinal obtida pela vacinação com agulha bifurcada foi inferior ao método intradérmico, porém equivalente ao aparelho Heaf. Foi verificado ainda que a combinação das vacinas BCG e antivariólica aplicadas no mesmo ponto com agulha bifurcada não levou a nenhuma perda aparente do efeito protetor. (104)

4. DISCUSSÃO

A sensibilidade tuberculínica pós-vacinal não dá informação suficiente sobre a absorção do BCG e não serve de todo para aferir proteção. Para Guld (47) a sensibilidade tuberculínica não é necessariamente uma medida real de proteção conferida, mas a frequência da reação no grupo vacinado é uma ferramenta de avaliação para o conhecimento de programas de saúde pública em termos de eficácia.

Somente depois da segunda Guerra Mundial os Estados Unidos e a Inglaterra decidiram realizar investigações sobre a eficácia da vacina BCG em bases científicas.

As bases fundamentais das experiências tinham os seguintes pontos:

- a. seguimento de uma amostra da população, suficientemente grande, em condições normais de vida, durante um tempo prolongado;

- b. distribuição aleatória dos tuberculino negativos que seriam vacinados e os que permaneceriam como controles não vacinados;
- c. seguimento do grupo tuberculino positivo com os mesmos métodos e procedimentos de observação que os usados no tuberculínico negativo e não vacinado.

A via original de administração foi a oral. Este método raramente usado atualmente, nunca teve provado o seu efeito protetor em pesquisa de campo controlado em bases científicas, no entanto, é justificado o seu uso, principalmente, por ser de fácil administração em recém-nascidos e poder se utilizar pessoas não treinadas.

É sabido que independentemente da proteção conferida na vacinação oral, a alergia é mais lenta, menos frequente, menos intensa e menos estável. As características apontadas ou mesmo a completa ausência de sensibilidade tuberculínica pós-vacinal, não significariam segundo Rosemberg(84) necessariamente a falta de impregnação do BCG no organismo, como confirma o BCG teste e a resposta a lepromina.

Rosemberg (84) assinala que a alergia pós-vacinal é apenas um dos elementos das diferentes manifestações imunobiológicas, e não traduz o valor de um determinado método de vacinação.

O método percutâneo é usado de longa data. Embora sua eficácia, julgada pela conversão tuberculínica tem sido adequadamente demonstrada, ainda não recebeu aprovação oficial.

À rígida estratégia da Organização Mundial de Saúde para a vacinação intradérmica em todos os continentes e em todas as circunstâncias não é de utilidade no controle da tuberculose. (80)

A vacinação intradérmica é agora geralmente aceita como o método mais eficiente, principalmente por permitir uma dosificação precisa e um alto e uniforme nível de sensibilidade à tuberculina, sem grande risco de complicações.

Os ensaios feitos em bases científicas e várias vezes analisados são:

- Aronson e col. (4), 1935-1958 em Índios Norte-americanos, seguimento de 15 anos, com taxa de eficácia protetora de 80% (vacinação intradérmica).
- Comstock e Webster (29), 1947 em escolares de Georgia, seguimento de 20 anos, com nenhuma taxa de eficácia protetora (vacinação percutânea).

- Palmer e col. (74), 1949-1951, na população geral de Porto Rico, seguimento de 5,5 e 7,5 anos (média: 6,5), com taxa de eficácia de 31% (vacinação intradérmica).
- Comstock e Palmer (28), 1950, na população geral de Georgia e Alabama , com seguimento de 14 anos, com taxa de eficácia de 14% (vacinação percutânea).
- Conselho de pesquisa Médico-Britânico (103), 1950-1952, na população urbana da Grã-Bretanha, seguimento de 15 anos, com taxa de eficácia de 78% - (vacinação intradérmica).
- Frimodt-Moller (40) e col., 1950-1955, na população rural do sul da Índia, seguimento de 9-14 anos (média: 12,3), com taxa de eficácia de 60% (vacinação intradérmica).

As explicações para esta ampla variação nas percentagens da eficácia da vacina são várias, sendo as mais importantes as seguintes:

- a. diferenças metodológicas;
- b. diferenças no estado nutritivo das populações investigadas;
- c. diferenças ecológicas entre os lugares onde se efetuaram as experiências; e
- d. diferenças na potência das vacinas utilizadas.

No ensaio da Inglaterra, periodicamente eram feitos exames radiológicos do tórax, em Porto Rico e em Georgia (Alabama), o seguimento se baseou nas notificações de casos dos serviços gerais e especializados de saúde.

Nos Índios dos Estados Unidos e Alaska com estado nutritivo inferior ao normal, a investigação de Aronson mostrou alta efetividade da vacina BCG.

O baixo grau de sensibilidade tuberculínica, produzida pela inalação de micobactérias atípicas e a frequência delas estão determinadas pelas condições climáticas prevalentes nas zonas tropicais. Micobactérias atípicas inoculadas no indivíduo atuam de maneira similar ao BCG, como uma primo infecção benigna, dando uma resistência frente a posterior inoculação do bacilo virulento. As diferentes micobactérias atípicas conferem graus diversos de proteção, mas em todos os casos inferior a produzida pelo BCG. Assim sendo, podemos concluir que a vacina BCG tenha um efeito protetor diminuído nas zonas cujas populações tenham uma alta prevalência de sensibilidade inespecífica. As experiências de Porto Rico, Georgia (Alabama) e sul da Índia correspondem a este tipo de região.

A diferença na potência das vacinas utilizadas tem sido demonstrada. Nos laboratórios as cepas usadas diferem uma das outras por suas características "in vivo" e "in vitro". Parece provável que as vacinas BCG utilizadas nas seis experiências no homem tenham variado pelo seu poder imunogênico.

A eficácia depende não somente da vacina usada ou do método de vacinação, mas também da extensão da superinfecção a que os vacinados estão submetidos. A observação entre a proteção e o risco de infecção é de maior importância nos países de alta prevalência de que nos de baixa.

Os resultados contraditórios dos estudos realizados e uma possível dependência de imunidade em relação à dose da vacina, diferenças na potência imunizante entre as cepas BCG e a possibilidade que populações em lugares geográficos (incluindo a Índia) são "naturalmente vacinados" pela sensibilização com bactérias atípicas, levaram o Conselho Indiano de Pesquisa Médica, o Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos e a Organização Mundial de Saúde a iniciarem em 1968 um novo ensaio de BCG no sul da Índia. O benefício do BCG só poderá ser avaliado 5 a 10 anos depois da vacinação não sendo possível esperar resultados a curto prazo. (109)

Foi feito um estudo paralelo, onde são analisadas as taxas de morbidade de três países escandinavos nos quais é usado amplamente a vacinação BCG, embora com políticas de aplicação diferentes. Após 1940, na Suécia é aplicada sistematicamente a primovacinação em recém-nascidos, na Noruega em crianças que terminam a escola primária e na Dinamarca nas que ingressam na escola primária. Quando foram comparadas as taxas de morbidade dos três países durante os anos 1950 a 1960, foi verificado, que embora a incidência da tuberculose apresenta-se em declínio em todas as idades, a redução por idade específica se encontrava relacionada estritamente com a política de vacinação dos diferentes países. Nos grupos etários onde a cobertura de vacinação com BCG foi grande, constatou-se uma diminuição de 20 a 25%, entretanto, nos grupos etários não vacinados, foi de apenas 10% (Bjartveit e Waaler, 1965). (15)

Estudos retrospectivos são raramente conclusivos, porém os resultados apresentados por Bjartveit e Waaler como relata Guld (47) são relacionados com a hipótese que o efeito do BCG sozinho é tão poderoso como todos os outros fatores tomados juntos: descoberta de casos e tratamento, bem como, aperfeiçoamento ambiental.

A política de vacinação BCG varia de país para país. A frequência de complicações não tem forçosamente uma influência direta na aceita

ção do método, dos quais depende em grande parte, o risco de tuberculose em cada país, e momento epidemiológico. A questão de aceitabilidade é relacionada a muitos fatores, que não dependem somente do efeito real do BCG, e, observações sobre este problema são valiosos somente para um dado período de tempo ou comunidade. (64)

A atitude dos médicos como também da coletividade em relação a complicação da vacinação BCG pode influenciar as autoridades na escolha do método ou da vacina preparada com cepas diferentes. Tal atitude pode conduzir as autoridades a escolha de vacina de menor eficácia resultando em uma taxa reduzida de reação tuberculínica. A escolha, segundo Mande (64), deverá ser feita sobre as bases do que é esperado da vacinação BCG. Se a tuberculose é problema importante em um país os fatos mencionados devem ser aceitos. Entretanto, se a tuberculose não representa problema de saúde pública as complicações da vacinação deveriam ser evitadas tanto quanto possível.

A escolha deve ser feita efetivamente pelas autoridades de Saúde Pública. É da maior importância que essas autoridades sejam corretamente informadas, com uma clara apresentação de alternativas de métodos de vacinação ou do uso de uma cepa de determinada atividade com alguns efeitos secundários dando uma boa imunidade e o uso de uma cepa fraca com menos efeitos secundários, embora com menor capacidade imunitária. (64)

5. CONCLUSÃO

1. Parece não existir uma via de administração mais eficiente que outra, o que parece existir, são condições determinantes para escolha de certos procedimentos, embora a via recomendada pela O.M.S. seja a intradérmica.
2. A escolha da via ideal de administração deve ser feita pelas autoridades sanitárias de cada país, de acordo com seus recursos e gravidade do problema.
3. Embora os estudos demonstrem que todas as vias de administração conferiram algum grau de proteção, a via intradérmica vem sendo a preferida pela maioria dos países.
4. A intensificação de vacinação que vem ocorrendo na maioria dos países, trará como consequência inevitável a inexistência de áreas virgens para futuros ensaios de campo com a vacina BCG.
5. Devido à complexidade dos fatores que afetam o comportamento "in vivo" e sendo ainda a reação à tuberculina usada como indicador indireto na determi

ção da eficácia, se faz necessário a criação de um método mais adequado para avaliação da atividade protetora do BCG.

6. Há necessidade da existência de um padrão internacional da vacina BCG, que sirva de comparação para os laboratórios de produção.
7. Há necessidade de um modelo experimental que realmente apresente resultados satisfatórios na determinação do poder imunizante e que seja adotado mundialmente.
8. Há necessidade de utilização de uma única cepa padrão a ser distribuída pela O.M.S. que seja satisfatória quanto à virulência, poder alergênico e imunogênico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLAN, W.G.L. and TANAKA, A. - A comparative study of different techniques of giving BCG vaccination to newborn infants in Hong Kong. Tubercle (Lond) 52: 247-257, 1971.
2. AMARAL, J.P. e SOERENSEN, B. - BCG por via oral em cobaios. I. Comportamento à reação de tuberculina. Hospital (R.J.) 58: 1053-1057, - 1960.
3. ARONSON, J. D. and ARONSON, C.F. - Appraisal of protective value BCG vaccine. J. Amer. med. Ass. 149: 334-343, 1952.
4. ARONSON, J.D.; ARONSON, C.F. and TAYLOR, H.C. -A twenty-year appraisal of BCG vaccination in the control of tuberculosis. Arch.intern. Med., 101: 881-893, 1958.
5. ARONSON, J.D.; PARR. E. Y. and SAYLOR, M.R. - BCG vaccine. Its preparation and the local reaction to its injection. Amer. Rev. Tuberc., 42: 651-666, 1940.
6. ARONSON, J.D. and SCHNEIDER P. - The problem of standardization of BCG vaccine. Amer. J. publ. Hlth, 40: 533-544, 1950.
7. A report from the Research Committes of the British Thoracic and Tuberculosis Association. - BCG vaccination by multiple-puncture. Fourth Report, 52: 19-30, 1971.
8. AZULAY, R.D. and KAHN, I. - Comparative experimental study of sensitivity to tuberculin and lepromin in Guinea pigs previously inoculated with BCG by oral and intradermal routes. Int. J. Leprosy, 38: 373-8, 1970.
9. BCG and the tuberculin test. Lancet, 1: 192-3, 1969.
10. BENOIT, J.C. et PANISSET, M. - Survie et multiplication du BCG et du bacille tuberculeux chez la souris. IV. Survis et multiplication de souchesfilles de BCG en fonction du temps et de la dese. Acta tuberc. pneu mol. scand., 43: (2): 125-136, 1963.
11. BIER, O.; MOTA I.; SILVA, W.D. e VAZ, N.M. - Hipersensibilidade mediada por células. In: Imunologia Básica e Aplicada. Rio de Janeiro, Guanabara, 1973. p. 256.

12. BIRKHAUG, K. - Allergy and imunity (Lathergy) in experimental tuberculosis. III. Degres of tuberculosis in BCG - immunized guinea pigs reinfect in the allergy and desensitized (iathergie) state. Acta. Tuberc. scand. , 13 (1-2): 163-192, 1939.
13. BIRKHAUG, K. - Correlation of numbers of cutaneous BCG vaccination papules and subsequent tuberculin allergy and tuberculosis resistance in guinea pigs. Amer. Rev. Tuberc., 60: 547-56, 1949.
14. BIRKHAUG, K.E. - Protection against tuberculosis with BCG in guinea - pigs. Amer. Rev. Tuberc., 27: 6-31, 1933.
15. BJARTVEIT, K. and WAALER, H. - Some evidence of the efficacy of mass BCG vaccination. Bull, Org. mond. Santé. 33: 289-319, 1965.
16. BOE, J. - Allergizing capacity of the various BCG vaccines. Actetuberc. scand., 25: 1-7, 1950.
17. CALMETTE, A.; NÉGRE, L. and BOQUET, A. - Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse. Ann. Inst. Pasteur, - 36: 625-631, 1922.
18. CHANDRA, P. - BCG vaccination and tuberculosis. Current Topic. J. In dian med. Ass., 61: 355-8, 1973.
19. CHANG, S.S. - Studies on three substrains of BCG. I. Intensity and extent of lesions produced in guinea pigs by intraperitoneal injection of - BCG. J. Form. med. Ass., 57 (8): 453-463, 1958.
20. CHANG, S.S. - Studies on three substrains of BCG. II. Lessions produced in the skin of guinea pigs by modified Jensen test. J. Form. med. Ass. 57 (8): 464-484, 1958.
21. CHANG, S.S. - Studies on three substrains of BCG. III. Allergizing capacity of BCG in guinea Pigs. J. Form. med. Ass., 57: 486-495, 1958.
22. CHANG, S.S. - Studies on three substrains of BCG. IV. Multiplication and survival of BCG in the organs of mice. J. Form. med. Ass., 57 (9): 594 603, 1958.
24. CHANG, S.S. - Studies on three substrains of BCG. VI. Immunogenicity in mice and guinea pigs. J. Form. med. Ass., 58 (2): 50-61, 1959.

25. CHRISTENSEN, H.; KJOLBYE, E. and AUNGTUN, U. - Effect of simultaneous BCG and smallpox vaccination in school children study. Bull. Org. mond. Santé, 35: 633-640, 1966.
26. COLLINS, F.M. and MACKANESS, G.B. - The relationship of delayed Hypersensitivity to Acquired antituberculous Immunity. I. Tuberculin Sensitivity and resistance to Reinfection in BCG - vaccinated mice. Cell. Immunol., 1: 253-265, 1970.
27. COMSTOCK, G.W.; LIVESAY, V.T. and WOOLPERT, S.F. - Evaluation - of BCG vaccination among Puerto Rican Children. Amer. J. Publ. Hlth, 64 (3): 283-91, 1974.
28. COMSTOCK, G.W. and PALMER, C.E. - Long term results of BCG vaccination in the Southern United States. Amer. Rev. Dis., 93: 171 - 183 , 1966.
29. COMSTOCK, G.W. and WEBSTER, R.G. - Tuberculosis studies in Muscogee County Georgia. VII. A twenty year evaluation of BCG vaccination in a school population. Amer. Rev. resp. Dis., 100: 839-845, 1969.
30. CRZYBOWSKI, S. - Immunization in tuberculosis. Canad. med. Ass. J., 108 674-675, 1973.
31. DAM, H. G. T. et alii - The use of jet-injectors in BCG, vaccination. Bull. Org. mond. Santé, 43: 707-720, 1970.
32. DANG, L.T.; BENOIT, J.C.; PANISSET, M. et FRAPPIER, A. - Survie et multiplication du BCG et du Bacille tuberculeux chez la souris. III. Comparaison des souches-filles brésilienne, canadienne, danoise, française, japonaise et russe. Acta. tuberc. scand., 43: 113-124, 1963.
33. DEINSE, F.V. - Considerations sur la valeur de la vaccination antituberculeuse par le BCG. Ann. Inst. Pasteur, 81 (2): 126-148, 1951.
34. DUBOS, R.J.; PIERCE, C.H. and SCHAEFER, W.B. - Antituberculous immunity induced in mice by vaccination with living cultures of attenuated tubercle bacilli. J. Exp. Med., 97: 207-220, 1953.
35. DUBOS, R.J. and PIERCE, C.H. - Differential characteristics in vitro and in vivo of several substrains of BCG. I. Multiplication and survival in vitro. Amer. Rev. Tuberc., 74 (5): 655-666, 1956.

36. DUBOS, R.J. and PIERCE, C.H. - Differential characteristics in vitro and in vivo of several substrains of BCG. IV. Immunizing effectiveness. Amer. Rev. Tuberc., 74: 699-717, 1956.
37. DUBOS, R.J. - Progress toward the standardization of BCG vaccine (editorial). Amer. Rev. Tuberc., 79: 80-83, 1959.
38. DUMON, J.F.; MAYER, M.; BROUILLET, G.M.T. et DUMON, G. - Une experience de trois ans de vaccination au BCG par multiponctures. Rev. Tuberc. (Paris), 33 (3): 1019-1022, 1969.
39. FRAPPIER, A.; MARTINEAU, B. et DOBIJA, M. - Le nodule de surinfection et le degré de résistance en tuberculose expérimentale. Incidence réduite et évolution retardée des nodules de surinfection en rapport avec le degré collectif de résistance chez les cobayes vaccinés par le BCG. Ann. Inst. Pasteur, 87: 131-140, 1954.
40. FRIMODT-MOLLER, J.; ACHARYULU, G.S. et PILLAI, K.K. - Observations concernant l'effet protecteur de la vaccination BCG parmi une population rurale du sud de l'Inde: Quatrième rapport. Document Complémentaire n° 2. Bull. Int. Union Tuberc., 48: 40-52, jun. 1973.
41. FRIMODT-MOLLER, J.; THOMAS, J. and PARTHASARATHY, R. - Observations on the protective effect of BCG, vaccination in a South Indian rural population. Bull. Org. mond. Santé, 30: 545-574, 1964.
42. GATEFF, C.; McBEAM, M.; MONCHICOURT, D. et LABUSQUIÈRE, R. - Contribution à l'étude de la vaccination BCG par la technique des pressions multiples à l'aiguille bifurquée. Bull. Int. Union. Tuberc. 48, (suppl.): 29-38, dec. 1973.
43. GERNEZ-RIEUX, C.H.; TAQUET, A.; FABRE, M.; GERARD, A. et VOISIN, C. - Absorption digestive du BCG chez les cobayes et les souris avant et après vaccination. Ann. Inst. Pasteur Lille, 6: 94-115, 1953.
44. GERNEZ-RIEUX, C.H. et GERVOIS, M. - Protection conférée par le BCG pendant les vingt années suivant la vaccination. Bull. Org. mond. Santé, 48: 139-154, 1973.
45. GERNEZ-RIEUX, C.H.; GERVOIS, M. et NISTRI, R. - Résultats épidémiologiques des premières vaccinations antituberculeuses (BCG) d'Albert Calmette effectuées à Roubaix, de 1925 à 1934. Étude comparative jusqu'en 1959 de

la mortalité tuberculeuse chez les sujets vaccinées a la naissance et chez les sujets non vaccinés. Ann. Inst. Pasteur Lille, 10: 89-96, 1958-1959.

46. GRIFFITH, A.H.; KINSLEY, B.J. and ANDERSON, D.J. - Multiple puncture BCG vaccination. Tubercle, (Lond) 43: 83, 1962.
47. GULD, J. - IV. B. Bacterial Diseases: The problem, and control by vaccines. Vaccination against tuberculosis. International conference on the application of vaccines against viral, rickettsial, and bacterial diseases of man. Washington, D.C. 14-18 december 1970.
48. GULD, J. - Interpretation of tuberculin reactions in populations with a high proportion of BCG - vaccinated persons. Bull. Org. mond. Santé, 17: 225-248, 1957.
49. HART, P.D. - Efficacy and applicability of mass BCG vaccination in tuberculosis control. Brit. med. J., 1: 587-592, 1967.
50. HASHIMOTO, T. - BCG., In: The vaccination theory and practice. 5. Reporting series, International Medical Foundation of Japan, 1975. p. 35-60.
51. HILCHER, W. e GHENO, E. - BCG por via oral em comparação com a via intradérmica. Arg. Inst. bras. Invest. tuberc., 18: 105-109, 1959.
52. HORWITZ, O. and BUNCH - CHRISTENSEN, K. - Correlation between tuberculin sensitivity after 2 months and 5 years among BCG vaccinated subjects. Bull. Org. mond. Santé, 47: 49-58, 1972.
53. IRONSIDE, A.G. - BCG vaccination. Practitioner, 206: 488-493, 1971.
54. JACOX, R. F. and MEADE, G.M. - Variation in the duration of tuberculin skin sensitivity produced by two strains of BCG. Amer. Rev. Tuberc., 60: 541-546, 1949.
56. JESPERSEN, A.; BENTZON, M.W. and MAGNUSSON, M. - Development of tuberculin sensitivity and acquired resistance to tuberculosis in guinea pigs vaccinated with a small dose of BCG vaccine. Acta. path. microbiol. scand., 54: 291-304, 1962.
57. JESPERSEN, A. - The potency of BCG vaccines determined on animals. (tese) Copenhagen, 1971.

58. JESPERSEN, A. - Studies on tuberculin and immunity in guinea-pigs induced by vaccination with varying doses of BCG vaccine. Acta. path. microbiol. scand., 38: 203-210, 1956.
59. JESPERSEN, A. and BENTZON, M. W. - The virulencia of various strains of BCG. Determined on the golden hamster. Acta. tuberc. pneumol. scand., 44: 222-249, 1964.
60. KAHN, H.; MEYRHEIM, R.; AZULAY, R.D. and SCORZELLI, A. BCG vaccination: A comparison of post-vaccination tuberculin sensitivity after oral and intradermal vaccination of newborn infants. Tubercle (Lond), 51: 423, 1970.
61. KRAUSE, A.K. - Studies on tuberculous infection. XII. The dissemination of Tubercle bacilli in Immune Guinea Pig, with a discussion of probable factors involved in tuberculo-immunity. Amer. Rev. Tuberc., 14: 211-236, 1926.
62. KREIS, B. - Sur la vaccination BCG par vois buccale. Rev. Tuberc. (Paris) 25: 517-520, 1961.
63. MACKANESS, G.B. - The immunology of antituberculous immunity. Amer. Rev. resp. Dis. 97 (3): 337-344, 1968.
64. MANDE, R. - Acceptability of BCG vaccination. J. biol. Stand., 5: 155-158, 1977.
65. MASSACHUSETTS DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH - Use of BCG is defec_utist. New Engl. J. med., 281 (21): 1192-1193, 1969.
66. MIRANDA, D.P. - A vacinação BCG oral e seu poder protetor na ação profilática em massa contra a tuberculose. Rev. Dep. Nac. Tuberc., 15 (58): 158-207, 1971.
67. MOODIE, A.S. and CHENG, G.K.K. - Concurrent BCG and amallpox vaccination in newborn babies. Tubercle (Lond), 43: 155, 1962.
68. NAGANNA, K. - Some of the BCG trials and certain aspects involved in them. Amer. Rev. resp. Dis., 109: 497-499, 1974.
69. NÈGRE, L.; BRETEY, J. et Mme. ROY, D. - Étude de l'alergie a la tuberculine et de l'infra-allergie aux corps bacillaires dans leur rapport avec la résistance antituberculeuse chez des cobayes vaccinés par ingestion de

grosses doses de BCG. Ann. Inst. Pasteur, 98 (1): 1-6, 1960.

70. NÈGRE, L. - Prémunition antituberculeuse du cobaye et du lapin nouveainés au moyen du BCG absorbé par la vois buccale. Ann. Inst. Pasteur, 54: (6) 697-707, 1935.
71. NÈGRE, L. et BRETEY, J. - Sur la vaccination antituberculeuse du cobaye au moyen du BCG introduit par des piqures cutaneées multiples au par des scarifications de la peau. Ann. Inst. Pasteur, 64 (3): 189-195, 1940.
72. NYBOE, J. - The efficacy of the tuverculin test. An analysis based on re sults from 33 countries. Bull. Org. mond. Santé, 22: 5-37, 1960.
73. OSEASOHN, R. - Current use of BCG. Amer. Rev. resp. Dis., 109: 500-501, 1974.
74. PALMER, C. E.; SHAW, L.W. and COMSTOCK, G.W. - Community trials of BCG vaccination. Amer. Rev. Tuberc., 77 (6): 877-906, 1958.
75. PANISSET, M. - Considerations sur l'evaluation du pouvoir immunisant du BCG. Bull. Inst. Univ. Tuberc., 41: 31-5, 1968.
76. PASQUIER, J.F. et KURYLOWICZ, W. - Test d'evaluation de la vaccina tion par le BCG au moyen de bacilles tuberculeux bovins marqués avec du carbone radioactif (^{14}C - acetate de sodium). C.R. Acad. Sci.(Paris) 148: 1569, 1571, 1954.
77. PASQUIER, J.F. et KURYLOWICZ, W. - Étude comparative de differente vaccins BCG au moyen de bacilles tuberculeux bovins et humains mar qués avec du carbone 14 ($^{14}\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$). Rev. Immunol. (Paris) 20: 139-160, 1956.
78. PIERCE, C.H. and DUBOS, R.J. - Differential characteristics in vitro and in vivo of several substrains of BCG. II. Morphologic characteristics in vitro and in vivo. Amer. Rev. Tuberc., 74: 667-682, 1956.
79. PIERCE, C.H.; DUBOS, R.J. and SCHAEFER, W.B. - Differential characte ristics in vitro in vivo of several substrains of BCG. III. Multiplication and survival in vivo. Amer. Rev. Tuberc., 74: 683-698, 1956
80. PINTO, M.R.M.; KUMARAKULASINGHE, C.B. and ARSECULERATNES, S. N. - Fifty uears of BCG. Tubercle (Lond) 52: 303-305, 1971.

81. PIO, A. - Eficácia de la vaccina BCG en el hombre. Torax, 18 (4): 213-223, 1968.
82. ROIT, I.M. - Hipersensibilidade. In: - Imunologia. 2a. ed. Tradução do Prof. Moisés A. Furks. Rio de Janeiro, Ateneu, 1976, p. 190-191.
83. ROSEMBERG, J. e PASSOS FILHO, M.C.R. - BCG oral e reação lepromina. Rev. bras. Leprol., 37: 51-60, 1970.
84. ROSEMBERG, J. e PASSOS FILHO, M.C.R. - Vacinação BCG pela técnica oral. Hospital (RJ) 78 (1): 101-174, 1970.
85. ROSENTHAL, S.R. - The multiple puncture method of BCG vaccination. Amer. Rev. Tuberc., 39: 128-134, 1939.
86. SEAGLE, J.B.; KARLSON, A.G. and FIELDMAN, W.H. - Irradiated anti tuberculosis vaccine, including comparison with BCG in experimentally - infected guinea pigs. Amer. Rev. Tuberc., 67: 341-353, 1953.
87. SMITH, D.W. - Why not vaccinate against tuberculosis. Ann. Intern. Med., 72: 419-422, 1970.
88. SMITH, K.C. and LAVIN, G.I. - The effects of ultraviolet radiation on tubercle bacilli. Amer. Rev. Tuberc., 39: 782-793, 1939.
89. SOERENSEN, B.; AMARAL, J.P.; PEREIRA, M.M.M. e SILVA, M.A. - Estudo comparativo da alergia tuberculínica e da proteção conferida pela vacina BCG, via oral e intradérmica em cobaias. Mem. Inst. Butantan, 35: 95-105, 1971.
90. SOUTH African Tuberculosis Study Group - Comparison of several BCG vaccines and methods of administration. S. Afr. med. J., 47: 2207-2218, 1973.
91. SPRINGETT, V.H. - The value of BCG vaccination. Tubercle (Lond) 46: 76-84, 1965.
92. SUTER, E. - Multiplication of tubercle bacilli within mononuclear phagocytes in tissue culture derived from normal animals and animals vaccinated with BCG. J. exp. Med., 97: 235-245, 1953.
93. SUTER, W.E. and DUBOS, R.J. - Variability of BCG strains (Bacillus Calmette-Guerin). J. exp. Med., 93: 559-572, 1951.

94. THOMAS, J.W.; CLEMENTS, D. and GRZYBOWSKI, S. - In vitro lymphocyte responses and skin test reactivity following BCG vaccination. Clin. exp. Immunol., 9: 611-623, 1971.
95. TOGUNOVA, A.J.; KULIKOVA, M.F. and KHATENEVER, M.L.K. - Characteristics of BCG substrains. J. Microbiol. Epidem. Immunobiol., 29: 335-340, 1958.
96. TOLDERLUND, K.; BENTZON, M.W.; BUNCH-CHRISTENSEN, K.; MACKPRANG, B.; GULD, J. and WAALER, H. - BCG - induced allergy and immunity in guinea-pigs during the first year after vaccination. Bull. Org. mond. Santé, 36: 747-753, 1967.
97. TOLDERLUND, K.; BUNCH-CHRISTENSEN, K. and WAALER, H. - Development and Course of Tuberculin allergy in guinea pigs vaccinated with various doses of Danish liquid BCG vaccine. Bull. Org. mond. Santé, 22: 185-196, 1960.
98. TOLDERLUND, K. ; BUNCH-CHRISTENSEN, K. and GULD, J. - Duration of allergy and Immunity in BCG vaccinated guinea-pigs - A five year study. Bull. Org. mond. Santé, 36: 759-769, 1967.
99. TUBERCULOSIS Program, U.S. Public Health Service - Experimental studies of vaccination, allergy and immunity in tuberculosis. V. Relation between degree of tuberculin sensitivity and resistance in the vaccinated individual. Amer. J. Hyg., 62: 185-199, 1955.
100. TUBERCULOSIS Vaccines Clinical Trials Committee BCG and vole bacillus in the prevention of tuberculosis in adolescents. (First Report to the Medical Research Council). Brit. med. J., 25: 413-427, 1956.
101. TUBERCULOSIS Vaccines Clinical Trials Committee - BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescents. (Second Report to the Medical Research Council). Brit. med. J., 12: 379-396, 1959.
102. TUBERCULOSIS Vaccines Clinical Trials Committee - BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescents and early adult life (Third report to the Medical Research Council). Brit. med. J., 13: 973-978, 1963.
103. TUBERCULOSIS Vaccines Clinical Trials Committee - BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescents and early adult

- life. (Fourth Report to the Medical Research Council). Bull. Org. mond. Santé, 46: 371-385, 1972.
104. VAUGHAN, J.P. ; LINDWVIST, K. ; BROOKE, D. and DOYLE, R.F. - Combined BCG and Smallpox immunization: A preliminary report on a method using the W.H.O Bifurcated needle. East Afr. med. J., 49: 207-212, 1972.
105. VAUGHAN, J.P. ; MENU, J.P. ; LINDQVIST, K.J. and VENNEMA, A. Percutaneous BCG immunization trial using the W.H.O Bifurcated needle. J. trop. Med. Hyg., 76: 143-146, 1973.
106. WALLGREN, A. - Intradermal Vaccinations with BCG virus. J. Amer. med. Ass., 15: 1876-1881, 1928.
107. WELLS, A.Q. and WYLIE, J.A.H. - The persistence of resistance following the disappearance of hypersensitivity in guinea-pigs after vaccination with vole bacillus and BCG. Brit. J. exp. Path., 33: 405-414, 1952.
108. WILLS, H.S. - Studies on tuberculin infection. XI. The early dissemination of tubercle bacilli after intracutaneous inoculation of immune guinea-pigs of reinfection. Amer. Rev. Tuberc., 11: 439-449, 1925.
109. WHO, Tuberculosis Unit, Geneva - The tuberculosis Prevention Trial in South India. A progress report. Pan American Sanitary Bureau, Regional Office of the World Health Organization. Inter-Office Memorandum, 1974.
110. WILSON, H.D. - Experience of BCG vaccination by jet-injection in an outbreak of primary tuberculosis. Lancet, 1: 927-928, 1973.
111. WILSON, J.M. ; GALBRAITH, J.D. and CRZYBOWSKI, S. - Tuberculosis in Eskimo Children. A comparison of disease in children vaccinated with bacillus Calmette-Guerin and non vaccinated children. Amer. Rev. resp. Dis., 108: 559-564, 1973.
112. ZEYLAND, M.J. et PIASECKA-ZEYLAND, E. - Sur la pénétration des bacilles através la parvi du tube digestif d'après les autopsies des enfants vaccines au BCG par voie buccale. Ann. Inst. Pasteur, 42: 61-66, 1928.