ACADEMIA BRASILEIRA DE MEDICINA VETERINÁRIA

ABRAMVET

A CÉLEBRE EXPERIÊNCIA DA PRIMEIRA VACINA DE LOUIS PASTEUR

CLÁSSICOS DA BIOLOGIA E MEDICINA

(YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE 75 (2002), pp. 59-62.)

**** Dr. Edino Camoleze***

Relatório resumido dos experimentos sobre a vacina *Anthrax*, conduzidos por Pasteur e a participação de médicos veterinários.

1. INTRODUÇÃO



O famoso microbiologista e químico francês Louis Pasteur foi o pioneiro no uso de vacinas microbiológicas produzidas em Laboratório, com bases científicas, para a prevenção de doenças infecciosas em humanos e animais. Um de seus primeiros e maiores sucessos na pesquisa médica foi o desenvolvimento de uma vacina opcional importante para a saúde e agricultura contra a doença antraz, uma vacina que ainda hoje é usada para animais em todo o mundo e humanos em alguns países. Ele demonstrou a eficácia de suas vacinas, muitas vezes com julgamentos públicos dramáticos. Um dos mais famosos foi o espetáculo público na pequena Vila francesa de Pouilly-le-Fort, Comunidade de Melun, Ile de France, em maio 1882.

Esse artigo, traduzido do original relatório francês do autor, relata a configuração do evento e vem a público, descrever o teste da vacina, pela primeira vez, em animais contra antraz. Pasteur usa o termo “vírus” em seus nove ensaios, no contexto do século dezenove, significando qualquer agente que transmite doenças em seu sentido mais moderno restrito.

**** Edino Camoleze - Médico Veterinário Militar (Cel. R/1) - Téc de Alimentos - Acadêmico Titular da ABRAMVET. edino0644@gmail.com. Resende-RJ.***

É interessante anotar que nem aqui nem em outro escrito Pasteur fornece uma descrição dos métodos de preparação de sua vacina ou outra experiência, segredos científicos. Ele era muito cuidadoso, reservado e manteve isso em sigilo. De fato, notícia recente *(The Private Science of Louis Pasteur, G.L. Geison, 1995)* mostra que seus pronunciamentos públicos que aludem para o sucesso de sua experiência e o método de preparação da vacina estão em desacordo com seus cadernos de laboratório, que mostram que ele conduziu esses famosos testes em Pouilly-le-Fort não com vacina preparada por seu método atenuação de oxigênio, mas, com vacina preparada pelo método de inativação de bicromato de potássio, de seu colaborador veterinário Dr. Jean-Joseph Henri Toussaint.



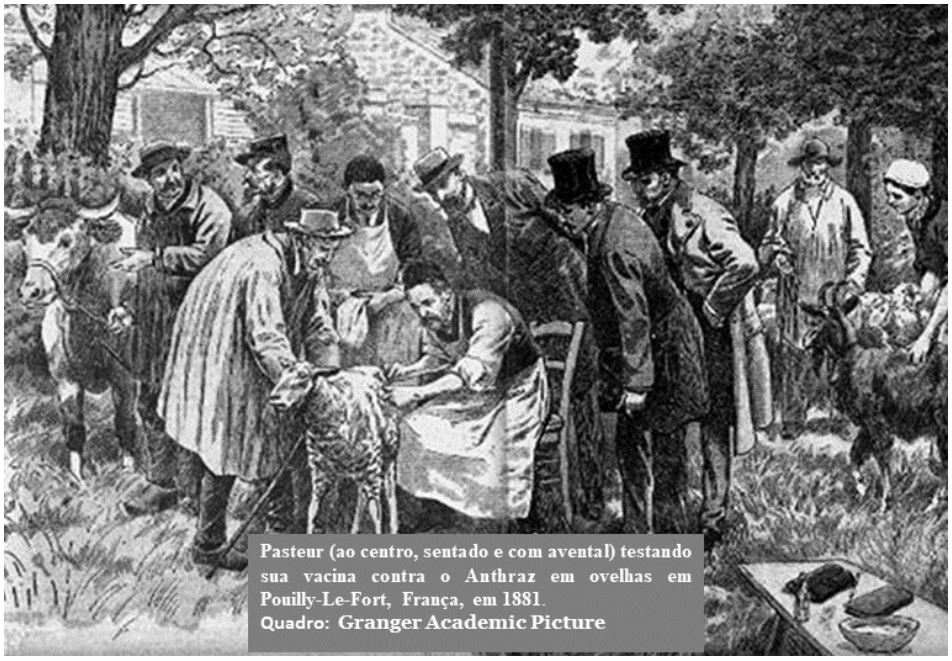
Louis Pasteur, criador da vacina contra raiva, um dos fundadores da microbiologia e inventor do processo de pasteurização dos alimentos.
Foto: Reprodução/pasteurbrewing.com

Em uma palestra que apresentou à Academia Nacional de Medicina, em 28 de fevereiro de 1882, o objetivo era descobrir um método para preparar o *anthrax* atenuado. Falei em meu nome e do meu jovem colaborador: cada um de nossos micróbios, *anthrax* atenuados, é uma vacina para o micróbio virulento, ou seja, para um vírus adaptado que produz mais variedades benignas de doenças. Afinal, o que poderia ser mais fácil do que encontrar, entre as variedades do micróbio do *anthrax,* alguns adaptados que podem causar a febre do antraz para ovelhas, vacas e cavalos, sem aniquilá-los. Temos praticado este procedimento com grande sucesso em ovelhas. Assim que o tempo permitir para reunir os rebanhos em Beauce, província francesa no Sul da França, vamos tentar aplicar este método em uma grande escala.

O antraz é responsável pela perda de muitos milhões de animais todos os anos na França. Consequentemente, seria desejável poder salvar espécies ovinas, bovinas, e equinas se o método acima, da vacinação, puder ser oferecido a nós quase imediatamente, e sem ter que esperar pela reunião do rebanho de ovelhas.

Em abril passado, o presidente da Sociedade de Agricultura de Melun, M. Baron de la Rochette, propôs que eu conduzisse um experimento prático para obter os resultados de que recentemente apresentei à Academia de Ciências Francesa. Tive o prazer de aceitar, e em 28 de abril, nos encontramos e concordamos em apresentar o método.

2. PROTOCOLO DE PASTEUR



Pasteur (ao centro, sentado e com avental) testando sua vacina contra o Anthraz em ovelhas em Pouilly-Le-Fort, França, em 1881.
Quadro: Granger Academic Picture

Proposta para o protocolo experimental oferecido por Pasteur (1882):

1. A Sociedade de Agricultura de Melun colocará sessenta ovelhas à disposição do Sr. Pasteur.

2. Dez dessas ovelhas não sofrerão qualquer tratamento (testemunhas).

3. Com um intervalo de doze a quinze dias, vinte e cinco dessas ovelhas vão receber duas vacinas desiguais de *anthrax* totalmente atenuado.

4. Essas vinte e cinco ovelhas serão inoculadas com *anthrax* muito virulento ao mesmo tempo que o restante vinte e cinco (ovelhas não inoculadas), após um novo intervalo de doze ou quinze dias de latência. Todas as vinte e cinco ovelhas que não forem vacinadas perecerão; todas as vinte e cinco que forem vacinadas vão resistir à infecção, e vamos

compará-las adequadamente com as dez ovelhas não tratadas acima. Isso, para mostrar que a vacinação não pré-evite que as ovelhas retornem a um estado normal.

5. Após a inoculação de micróbio muito virulento para os dois lotes de vacinados e não vacinados de ovelhas, as cinquenta ovelhas permanecerão juntas no mesmo curral; um vai distinguir-se do outro pela perfuração de um furo nas orelhas das vinte e cinco ovelhas vacinadas.

6. Todas as ovelhas que morrerão do antraz serão enterradas em valas distintas, vizinhas uma das outras, em um local previamente escolhido e natural.

7. Em maio de 1882, colocaremos vinte cinco novas ovelhas - que nunca foram submetidas a esses tratamentos - no recinto em questão para provar que as novas ovelhas podem ser infectadas espontaneamente pelo micróbio do *anthrax* trazido de volta para a superfície do solo por terra ou vermes.

8. Outras vinte e cinco novas ovelhas serão pastoreadas por alguns metros longe do recinto descrito acima. Nenhum animal infectado com *anthrax* já foi enterrado nessa nova área e, portanto, esta experiência irá mostrar que nenhuma destas novas ovelhas contrairão antraz.

Quando o presidente da Agricultura da Sociedade de Melun, Sr. Rochette, pediu que esses experimentos também fossem estendidos às vacas, Pasteur respondeu que estavam prontos para isso.

No entanto, gostaria de informar à Sociedade que, no momento, a vacinação (experimentos em vacas) não avançou num nível como em ovelhas, de modo que os resultados obtidos podem não ser tão óbvios e convincentes como nas ovelhas. De qualquer modo, gostaria de agradecer à Sociedade de Melun por ter colocado dez vacas à nossa disposição. Dez vacas foram colocadas à disposição. Seis dessas vacas foram vacinadas e quatro não. Depois de receber a vacinação, as seis vacas foram inoculadas com uma cepa altamente virulenta do micróbio (ao mesmo tempo que as cinquenta ovelhas). Hipotetizou-se que as seis vacas vacinadas não

ficariam muito doentes, enquanto as quatro vacas não vacinadas morreriam ou pelo menos ficariam muito doentes.

Eu concordo que minhas previsões soaram corajosamente proféticas, e é verdade que minha arrogância pode ser desculpada apenas por sucessos com esses experimentos. Várias pessoas tiveram a gentileza de reprovar a imprudência científica desta abordagem.

No entanto, a Academia deve entender que concebemos tal esquema sem sólidos conhecimentos, apoiando-nos nos resultados de anteriores experimentos, apesar do fato de que nenhum desses experimentos anteriores eram tão grandes. É com esse espírito, eu acredito, que posso citar as palavras do poeta inspirado: *Audentes fortuna juvat*. "Fortuna favorece os corajosos" e "Fortuna favorece os fortes".

Os experimentos começaram no dia 5 de maio, em uma comuna de Pouilly-le-Fort, perto Melun, em uma fazenda pertencente ao Sr. Rossignol, veterinário amigo de Pasteur.

A pedido da Sociedade de Agricultura de Melun que promoveu esses testes, concordamos em substituir duas ovelhas por duas cabras, e uma vez que não havíamos especificado condições de idade ou de raça, as cinquenta e oito ovelhas eram de diferentes idades, raças e sexos. Dos dez animais da espécie bovina, havia oito vacas, um boi e um touro.

Em 5 de maio de 1881, usamos uma seringa Pravaz para inocular vinte e quatro ovelhas, uma cabra e seis vacas cada com cinco gotas, (ml), de antraz atenuado. Em 17 de maio, revacinou-se essas vinte e quatro ovelhas, a cabra e as seis vacas com mais *anthrax*. Enquanto este micróbio, também atenuado, foi mais virulento do que o *anthrax* usado na vacinação anterior.

Em 31 de maio, procedemos à inoculação desses animais com o *anthrax* vírus muito virulento que determinaria o efeito das inoculações preventivas dadas entre 5 e 17 de maio. Para tanto, inoculou-se os trinta e um animais vacinados (com a cepa muito virulenta), e também outras vinte e quatro ovelhas, uma cabra, quatro outras vacas, nenhuma das quais tinha sido exposta a este tratamento anteriormente.

O *anthrax* muito virulento usado em 31 de maio foi regenerado a partir de esporos do parasita do *anthrax* armazenado em meu laboratório desde 21 de março de 1877.

Para tornar os experimentos mais definitivos, inoculamos um vacinado e um animal não vacinado com o próprio virulento *anthrax.* Com as inoculações compreendidas, todas as pessoas presentes, decidiram reunir-se novamente na quinta-feira**,** 2 de junho, 48 horas após as inoculações com o próprio vírus *anthrax*.

3. RESULTADO DO TESTE EXPERIMENTAL DA VACINAÇÃO.

Quando os visitantes chegaram em 2 de junho, eles ficaram surpresos. As vinte e quatro ovelhas, a cabra e as seis vacas que tinham recebido as vacinas de *anthrax* atenuado, todas pareciam saudáveis. Em contraste, vinte e uma ovelhas e a cabra que não tinham sido vacinadas já tinha morrido de antraz; duas outras ovelhas não vacinadas morreram na frente dos expectadores, e aquele restante das ovelhas morreu no final do dia.

As vacas não vacinadas não morreram (após exposição ao *anthrax* virulento). Já mostramos antes que vacas eram menos propensas do que ovelhas a morrer de antraz. No entanto, (dentro de 48 horas), as vacas não vacinadas mostraram todas edemas no local, logo atrás das cernelhas onde foram inoculadas. Em alguns casos, estes edemas aumentaram em gravidade nos dias seguintes, na medida em que eles continham vários litros de fluido: um desses inchaços até tocaram o solo.

A temperatura dessas vacas aumentou 3º C. As vacas vacinadas não apresentaram elevação da temperatura, inchaço ou mesmo perda de apetite. Isso confirma o resultado previsto: deve ser tão completo e igual para as vacas como para as ovelhas.

Na sexta-feira, 3 de junho, uma das ovelhas vacinadas morreu. Uma autópsia foi realizada nesse mesmo dia pelo Sr. Rossignol e Sr. Garrouste, veterinários civil e militar. A ovelha estava grávida, carregando um cordeiro morto que morreu em seu útero de doze a quinze dias atrás. A opinião dos veterinários que realizaram a autópsia foi que a morte desta ovelha foi devido à morte de seu feto, ainda no útero.

Os experimentos que foram relatados e presenciados por autoridades civis e veterinários de várias parte da França, convidados, despertaram grande curiosidade em Seine-et-Marne e departamentos vizinhos. Eles foram testemunhados por cem pessoas, sete das quais, em destaque, mencionarei:

O Presidente da Agricultura da Sociedade de Melun, Sr. Erneste-Léon Zacharie Poictevin, Barão De La Rochette; Sr. Eugène Tisserand, diretor de Agricultura; O prefeito do Seine-et-Marne, Sr. Charles Patinot; Um dos senadores do departamento, Sr. Foucher de Careil, presidente do Conselho Geral; Sr. Henry Bouley, médico veterinário, membro da Academia de Ciências da França; O prefeito de Melun, Sr. Marc de Haut, presidente e Sr. Decauville, vice-presidente da Feira de Seine-et-Marne; Vários conselheiros gerais; Todos os principais agricultores do distrito; Senhor Gassend, diretor da Agricultura, estação de pesquisa de Seine-et-Marne; Dr. Remilly, presidente e Sr. Pigeon, vice- presidente da Sociedade de Agricultura de Seine-et-Oise; Sr. Henri Georges Stephane Adolphe Opper de Blowitz, correspondente do Times; cirurgiões militares e veterinários estacionados em Melun.

Finalmente, um grande número de veterinários civis, entre os quais nomearei, além deles: Sr. Rossignol de Melun, Garnier e Percheron, de Paris; Nocart, de Alfort; Verrier, de Provins; Biot e Grand, da Sociedade Médica de Yonne; Thierry, de Tonnerre; Butel, de Meaux; Borgnon, de Couilly; Caffin, de Pontoise; Bouchet, de Milly; Pion, de Grignon; Mollereau, de Charenton; Cagnat, de Saint-Denis, etc.

" Eu não posso esconder minha satisfação em nomear esses veterinários que foram trazidos para Ile-de-France, Pouilly-le-Fort, para a fazenda de seu colega Sr. Rossignol, por um desejo de saber a verdade. Um grande número deles - senão todos - tinha sido incrédulo nos resultados de nossos tratamentos anteriores. Nas suas conversas e diários, eles resistiram em aceitar como verdadeira a artificial preparação de nossas vacinas contra aves, cólera e antraz. Hoje, esses senhores são os discípulos mais entusiastas de nossas novas doutrinas. Um deles - que era muito mais cético no começo - confia em nosso método na medida em que ele quer iniciar um programa de vacinação para ele (Biot). Este é um bom

presságio. Eles vão se tornar defensores da vacina contra o antraz na nação; nós os convertemos finalmente. Isto é particularmente importante que, pelo menos por enquanto, as culturas de vacinas são preparadas e controlados em meu laboratório". *(Pasteur, Melun, 1881).*



Pasteur em seu Laboratório de Bacteriologia.
Quadro: Science History Institute/Gregory Tobias

Uma aplicação defeituosa do método pode comprometer no futuro um método que promete prestar um grande serviço ao campo da agricultura.

Em resumo, agora possuímos uma vacina de *anthrax* que é capaz de salvar animais desta doença fatal; um vírus-vacina que nunca é letal; vacina viva, que pode ser cultivada à vontade e transportada sem alteração. Finalmente, esta vacina é preparada por um procedimento que acreditamos que pode ser generalizado, uma vez que pela primeira vez, este foi o método usado para desenvolver uma vacina contra o cólera aviária.

Com base em todas as condições que listo aqui, e olhando para tudo, apenas de um ponto de vista científico, o desenvolvimento de uma vacinação contra o *anthrax* constitui progresso significativo, além da primeira vacina desenvolvida por Jenner, já que aquela nunca tinha sido obtida experimentalmente.

4. ESPECIALMENTE, SOBRE OS VETERINÁRIOS QUE TESTEMUNHARAM O EVENTO

1. ROSSIGNOL - (De Mellun). Joseph Hippolyte Rossignol. Veterinário formado em Lyon que lutava pela organização da veterinária civil, banindo os práticos e falsos veterinários. Em fevereiro de 1879, ele fundou a Society of Practical Veterinary Medicine, reunindo as sociedades departamentais de Seine-et-Oise, Seine-et-Marne e Loiret; ele era seu secretário geral. Em 15 de julho de 1879, fundou a revista Echo veterinarian com seus colegas Jean-François Quivogne, Thierry, Émilien Griolet e Larmet; ele deixou a redação após uma briga. Em 1881, ele

fundou, com Garnier e Biot, a revista da imprensa veterinária. Tinha uma Fazenda em Melun, onde foi realizado o experimento de Pasteur.

2. GARNIER - (De Paris). François Garnier. Professor da Escola de Medicina de Lyon. Catedrático da cadeira de Carnívoros - Biologia Funcional. Clínico e Bacteriologista.

3. PERCHERON - (De Paris). Gaston Percheron. Professor de História Natural. Higienista e Patologista. Farmacêutico e Jurisprudência Veterinária.

4. NOCARD - (De Alfort). Edmond Nocard. Professor da Escola de Veterinária Maison de Alfort. Clínico, cirurgião, higienista, bacteriologista e jurisprudência veterinária. Criador da Revista "*Archives Veterinaire*". Colaborador de Roux, Calmette e Guérin, na descoberta do BCG e Pasteur na vacina Anthrax.

5. VERRIER - (De Provins). Jean-Felix Verrier. Professor da Escola Imperial de Alfort. Exerceu as funções de auxiliar de veterinário nos Depósitos de animais doentes do Exército Francês. Bancou seus estudos em Alfort. Oficial Veterinário do 14º Regimento de Cavalaria. Clínico, Cirurgião. Presidente da Sociedade de Agricultura do Seine.

6. BIOT - (De Yonne). Jean Baptiste Biot. Fundador com Garnier, em 1881, a Revista Imprensa Veterinária.

7. THIERRY - (De Tonnerre). Auguste Émile Lucien Thierry. Diretor da Escola Prática de Agricultura e Viticultura de La Brosse. Clínico, Bacteriologista, Zootecnista e Higienista. Escreveu mais de 250 trabalhos sobre zootecnia e veterinária. Cavaleiro da Legião de Honra em 14 de julho de 1892, do Ministério da Agricultura. Ele foi elevado ao posto de cavaleiro da Ordem do Mérito Agrícola de 1889.

8. BUTEL - (De Meaux) Gustave Butel. Presidente da Sociedade Central de Medicina Veterinária (1902). Presidente da Sociedade de Veterinária Prática. Clínico, patologista, sanitarista, pneumologista.

9. BORGNON - (De Couilly). Jean Albert Borgnon. Formado na Escola de Veterinária de Alfort, 1812. Clínico, patologista, parasitologista.

10. BOUCHET (De Milly). Ghislaine Bouchet. Médico Veterinário formado na Escola Nacional de Alfort, hipologista e hipiatra que desenvolveu métodos modernos de ferrageamento dos cavalos de guerra, tração e

equitação. Junto com Lafosse, desenvolveu ferraduras especiais para a cura de doenças do pé do cavalo.

11. PION (De Grignon). Ernest Pion. Editor da Revista de Trabalhos franceses e estrangeiros " A Semana Veterinária ". Bacteriologista com relevantes estudos sobre a raiva em ovelhas e cabras Higienista de Alimentos.

12. MOLLEREAU (De Charenton). Alfred Marcel Mollereau. Formado em Alfort (1900) foi oficial do Exército francês na 1ª GM. Era major de 2ª Classe no 2º Regimento dos Dragões onde chefiava o Corpo Clínico e Cirúrgico daquela Unidade Militar.

13. CAGNAT (De Saint-Denis). René Cagnat. Coronel bacteriologista do exército francês. Membro da Sociedade Central de Medicina Veterinária. Clínico e Parasitologista.

5. JUÍZO DE LOUIS PASTEUR SOBRE OS VETERINÁRIOS.

Louis Pasteur (1822 - 1895), físico-químico e bacteriologista, pai da microbiologia moderna, cientista consagrado mundialmente pelos estudos científicos sobre a cristalografia, constituição química molecular das substâncias sobre a ação da luz polarizada, (1848), fermentação alcoólica; vinho e cerveja, e lática; leite e derivados, criador da Teoria da Biogênese, (1860) e microbiologia. Foi nessa novel ciência com as descobertas de microorganismos patogênicos para a saúde humana e animal, *Teoria Germinal*, que Pasteur avançou para o entendimento da epidemiologia e os fatores que intervém na difusão e propagação das doenças, sua evolução e o descobrimento de meios necessários à sua prevenção, vacinas. Assim, sempre com o apoio imprescindível de médicos veterinários, a maioria franceses, estudou primeiramente a pebrina *(Nosema bombycis)* (1850), doença de protozoário que matava o bicho da seda *(Bombix mori)* causando pesados prejuízos aos sericultores franceses; a cólera aviária *(Salmonella sp)* (1865), uma bactéria que causava grandes mortandade à avicultura nos meios rurais; a erisipela suína *(Erysipelothrix rhusiopathiae)* (1871), bactéria contagiosa que aniquilava a criação da suinocultura principalmente, no Sul da França; o carbúnculo hemático (*Bacillus anthracis*) (1881), doença contagiosa animal transmissível aos humanos, famosa experiência pública da vacina contra a doença em Pouilly le Fort, com o vírus atenuado, e finalmente a

raiva (1885), *(Virus rabies)* quando aplicou pela primeira vez uma vacina preparada em laboratório em humano, menino de 9 anos, Joseph Meister que havia sido mordido por um cão raivoso. Essa inédita experiência com uma vacina sintética foi a consagração maior de Pasteur para a medicina, o que lhe valeu o título honorífico de gênio e "Benfeitor da Humanidade".



Pasteur, assistindo a aplicação da 1ª vacina contra a raiva, produzida em seu laboratório. Menino Joseph Meister.
Quadro: Granger Academic Picture

Pasteur, em todas as pesquisas com animais, tinha a colaboração e assessoria de médicos veterinários, dentre eles: Edmond Nocard, Albert Calmett, Camille Guérin, Gaston Ramon, Auguste Chauveau, Elmer Salmon, Gabriel Colin, Henry Bouley, todos profissionais categorizados, membros da Academia de Medicina Veterinária da França e professores das consagradas Escolas de Alfort e Lyon.

Louis Pasteur tinha grande amor à Medicina Veterinária e seus colaboradores franceses. Sobre a Veterinária proferiu em um de seus discursos a célebre frase:

"*A* **Medicina** *cura o homem, a* **Medicina Veterinária** *cura a humanidade*".

A ABAMEV recomenda:

1) Visitar o link:

http://ecolepouilly.free.fr/pasteur.htm

2) Assistir o maravilhoso e imperdível filme sobre a vida de Louis Pasteur (Youtube):

https://youtu.be/Hq1P--o3V0w