

Es propósito de esta Redacción ofrecer a nuestros jóvenes y estudiosos colegas algunos trabajos de alto valor, así como la bibliografía que pueda interesarles en cada momento. Por razones fáciles de comprender no nos será posible hacerlo, en este número; pero lo haremos en el próximo. Como anticipó a ese propósito adelantamos este trabajo que integra la bibliografía sobre Virus Filtrables - Afloxa.

La importancia de la adsorción en la inmunización activa contra las enfermedades a ultravirus (1)

Por el Dr. S. SCHMIDT

Office International des Epizooties. Año 1939. Pág. 492.

Las enzimas, las toxinas y los ultravirus, presentan ciertos caracteres comunes, tanto en el aspecto físico (coloideoquímico), como en el inmunológico.

Nos ocuparemos en este trabajo, de los fenómenos específicos de la adsorción y principalmente de las ventajas de una inmunización en la cual se utiliza como antígeno, una combinación de virus y de adsorbentes específicos.

GENERALIDADES CONCERNIENTES A LA ADSORCION NO ESPECIFICA DE LAS TOXINAS Y DE LOS VIRUS FILTRABLES EN PRESENCIA DE DIVERSAS SUSTANCIAS UTILIZADAS COMO AGENTES DE ADSORCION

La adsorción de las toxinas por diversos agentes químicos fué experimentalmente estudiada por Roux y Yersin (1889), que descubrieron la primera toxina bacteriana (toxina de la difteria). Estos autores, demostraron que la toxina específica, puede ser precipitada por adición al caldo de toxina diftérica, de sales de calcio o de aluminio. El sedimento, constituido por las sales básicas de los elementos mencionados, adsorbe la toxina, mientras que las proteínas más o menos elaboradas, quedan en la solución. La toxina ha podido ser purificada y concentrada por este proceso de precipitación.

Se ha ensayado últimamente de dilucidar la naturaleza de las enzimas por medio del proceso de adsorción. En este terreno, Willstätter y sus colaboradores, han abierto una nueva vía. Willstätter utiliza para la adsorción, los hidróxidos metálicos preparados por él, sobre todo el hidróxido de aluminio, a títulos diversos. Por una adsorción repetida, seguida de la liberación de las sustancias adsorbidas en presencia de soluciones "tampon" variadas, o de amoníaco líquido, Willstätter, ha obtenido soluciones purificadas de enzimas.

(1) De Gaceta Veterinaria Año III, 1941, N.º II.

La utilización de los principios de Willstätter, permite obtener toxinas bacterianas muy purificadas. Bajo este aspecto, la toxina diftérica fué objeto de muy profundos estudios (S. Schmidt y sus colaboradores).

Se encuentra, en las publicaciones especializadas, numerosas comunicaciones referentes a la adsorción de los ultravirus en presencia de diversas sustancias. Diferentes especies de virus han sido estudiadas en este sentido: la rabia, (Kraus, von Eisler, Fukuhara, 1909); la fiebre aftosa (Vallée y Carré, 1921); el herpes y el cow-pox-neurovacunas (Levaditi y Nicolau, 1923); el virus de la vacuna (Lewis y Andervont, 1927, Ledingham, 1927, Yavi y Kasal, 1929 y 1933, Kliger, 1934, Schmidt y Oerskov, 1935, Deutsch, 1936. H. Moriyama, 1937); la rabia, (Kodama y Umeno, 1933, Schmidt y Oerskov, 1935); la poliomieltis (Sabine); el mosaico (Stanley, 1935); la enfermedad de Aujeszky (Schmidt y Oerskov, 1935, Fjord-Nielsen, 1936), los bacteriófagos (Maisin, 1921, Gildemeister y Herzberg, 1924, Kliger y Olitzki, 1931, Bechhol y Schlesinger, 1931); la peste aviar (Doerr y Gold, 1932, Doerr y Seidenberg, 1935, Schmidt y Oerskov, 1935); el sarcoma de Rous (Lewis y Andervont, 1927, Lewis y Mendelshon, 1931); le mixomatosis del conejo (Lewis, 1931); el sarcoma de Rous (Fraenkel y Mawson, 1935).

Se desprende de esta enumeración que el problema de la adsorción de los ultravirus en presencia de productos no específicos, ha llamado la atención de un cierto número de investigadores, que se han dedicado principalmente, en el curso de sus trabajos, a estudiar si un virus determinado puede ser adsorbido y luego desprendido de la substancia adsorbente y si este procedimiento provoca la purificación del virus.

SOBRE LA INMUNIZACION POR VIRUS ABSORBIDOS

Desde 1925, G. Ramón y sus colaboradores han utilizado para la hiperinmunización de los caballos contra la difteria y el tétanos, el principio de que, la adición de diversos cuerpos no específicos, ejercen una excitación local en el punto de inoculación. De acuerdo con Ramón, el almidón de tapioca es particularmente apropiado para provocar un aumento de la inmunidad. S. Schmidt (1926), confirma estos resultados, sobre todo por sus experiencias de inmunización contra el tétanos. Los autores ingleses (Glenny y sus colaboradores), aportan experiencias análogas en las cuales trataron cobayes por los toxoides formolados de la difteria y del tétanos, a los que habían agregado pequeñas cantidades de alumbre, provocando una inmunidad más sólida que con los antígenos simples. Se ensaya también en los niños (Park, 1930), la vacuna de la difteria conteniendo alumbre, pero estas experiencias han quedado interrumpidas porque en muchos casos, daba reacción extremadamente violenta y aún abscesos en el punto de inoculación.

S. Schmidt, demuestra (1913), que la toxina de la difteria, previamente asociada al hidróxido de aluminio, es menos tóxica para los cobayos que si se inoculara por la vía subcutánea sin dicho adsorbente. Por el contrario el hidróxido de aluminio

inculado por vía endovenosa o por vía intraperitoneal, es tan tóxico como la toxina misma. Los adsorbentes, por sí mismos, no están desprovistos de toxicidad, salvo que sean diluidos en un medio pobre en electrolitos. Si el líquido de dilución contiene una sustancia "tampon" que influencia la liberación del virus, el hidróxido de aluminio no es capaz de ejercer una acción neutralizante del veneno. Por otra parte, aún en las condiciones más favorables, no es posible generalmente, neutralizar de esta manera, más que cantidades muy pequeñas de venenos. Los animales que soportan una inyección de adsorbido nocivo, presentan una inmunidad más o menos pronunciada, según las propiedades de la toxina.

La adición a los toxoides formulados purificados, de pequeñas dosis de hidróxido de aluminio, ha sido recomendada por S. Schmidt. Las vacunas para los niños, utilizados en la práctica, se han mostrado eficaces.

Doerr y Gold (1932), han podido demostrar que el virus proveniente de suero de animales atacados de peste aviar, es adsorbido por los glóbulos rojos de pollos normales. Lo mismo, el virus en presencia de carbón animal, así como de carbón animal y de glóbulos rojos normales, ha podido ser adsorbido. A raíz de la utilización de este último procedimiento, los autores mencionados, han hecho una observación muy interesante: el virus de la peste aviar adsorbido por el carbón y desecado al aire, puede ser conservado cierto tiempo sin perder su infecciosidad. Además los observadores han demostrado que las experiencias de adsorción del virus de la peste aviar por el hidróxido de aluminio, según la técnica del Willstätter, no tiene éxito, porque este procedimiento quita al virus, gran parte de su eficacia. Se observa que sólo los adsorbidos se mantienen virulentos, no así la parte líquida ni la parte liberada del adsorbido.

Más abajo el A., estudia en detalle las propiedades de los adsorbidos de diversos virus, entre los que se destaca el de la fiebre aftosa.

FIEBRE AFTOSA

Las experiencias mencionadas en la introducción, concernientes a la adsorción del virus de la fiebre aftosa, han perseguido un fin teórico. Por el contrario los autores daneses H. O. Schmidt-Jensen, A. Hansen, J. Oerskov y S. Schmidt, han tratado de conseguir la preparación de adsorbidos que, en determinadas condiciones no sean nocivos para el organismo animal y que posean propiedades inmunizantes marcadas. Las experiencias preparatorias (Schmidt-Jensen, Schmidt-Hansen) demostraron que es posible preparar tales adsorbidos.

Los experimentadores utilizaron la técnica siguiente: la linfa virulenta de aftas primarias de cobayos a los que se les había inoculado, 24 horas antes, en la superficie plantar, material extremadamente virulento, es centrifugada durante 15 minutos en un aparato de ultracentrifugación marca "Ecco" (15.000 revoluciones por minuto), para desfibrinarla. La linfa clarificada, es decantada con precaución y después de diluirla en nueve partes de agua destilada estéril, es sometida a una nueva centrifugación. Se obtiene así un sedimento muy reducido, compuesto en gran parte por la euglobulina precipitada. Los adsorbidos son preparados partiendo de esta dilución de virus: contienen 10 % de virus diluido y 90 % de hidróxido de aluminio

y otro, 20 % de dilución de virus y 80 % de hidróxido de aluminio. Inoculados al cobayo por vía subcutánea, provocan una pequeña reacción local, imputable al hidróxido de aluminio. No existe reacción específica, salvo en algunos casos en que aparece un enrojecimiento y ligera tumefacción en la región plantar, pero éstos, desaparecen rápidamente dejando en su lugar una ligera capa escamosa. Si la inoculación se realiza por vía intraperitoneal, puede provocar una evolución aftosa.

Los resultados obtenidos por la inoculación intracutánea presentan un interés particular. En este caso el virus ejerce la misma acción que el virus diluido en la solución "tampón".

Por la utilización de la linfa de cobayo a una dilución 10 %, a una tasa 1:2.200.000, se ha procedido 26 días después de la segunda vacunación, a una prueba de la inmunidad, registrándose los resultados a continuación:

17 cobayos inoculados en la mucosa de las encías, se manifiestan inmunizados, mientras que este modo de infección, provoca una fiebre aftosa típica generalizada en 10 testigos.

20 cobayos, inoculados en la superficie plantar, son encontrados parcialmente inmunes. Se forma, en tres animales aftas primarias difusas. Aftas primarias parciales se desarrollan en otros seis sujetos (no cubren más que una parte de la planta del pie). Los otros 11 cobayos reaccionan con aftas primarias abortadas, reabsorbidas a los 5 ó 6 días sin dejar rastros. Prácticamente estos últimos animales pueden considerarse como inmunes. Los 10 testigos infectados al mismo tiempo que los precedentes, presentan una infección típica generalizada.

Ocho cobayos a los cuales la vacuna no había sido inyectada más que una sola vez 1 cc. de vacuna al 20 % se comportan de la manera siguiente: cuatro de los cobayos se han mostrado completamente inmunes a la inoculación en la mucosa de las encías. Sobre los cuatro cobayos inoculados en la parte plantar, uno presenta aftas primarias típicas y una generalización ligera (una sola afta miliar en la lengua), el tercer día pérdida de peso de 7 %, mientras que un segundo cobayo reacciona con una afta primaria típica, sin generalización y sin pérdida de peso. Los otros dos cobayos presentan aftas primarias abortadas, que se reabsorben sin dejar rastros.

Resulta de esta experiencia que una sola inyección es suficiente para provocar una inmunidad del cien por cien. Los resultados demuestran que por lo menos es posible, por la utilización de adsorbidos de aluminio conteniendo un virus activo, evitar las manifestaciones clínicas de la fiebre aftosa y de obtener, en muchos casos, una inmunidad total contra dosis masivas de virus.

En el curso de nuevas experiencias, S. Schmidt y A. Hansen, demuestran que la inocuidad de los adsorbidos de virus, luego de la inoculación subcutánea, depende principalmente del tenor de estos adsorbidos en hidróxido de aluminio.

Si se inyecta a cobayos, por vía subcutánea, una preparación conteniendo 1 cc. de linfa virulenta al 40 % y 60 % de hidróxido de aluminio, la mitad de los animales contraen la fiebre aftosa generalizada. Un adsorbido que no contenga más que 20 % de virus, es menos nocivo, ya que no provoca la enfermedad más que el 20 % de los animales. Los adsorbidos al 10 %, son inofensivos para la mayor parte de los cobayos si la inyección se hace por vía subcutánea. En este caso, solamente 2 % y como máximo el 5 % de los animales enferman después de la

inyección. Se puede admitir que los adsorbidos que contienen dosis pequeñas de virus activo, pueden provocar la enfermedad en animales hipersensibles. Es por ello que, S. Schmidt, utiliza en el tratamiento de la fiebre aftosa, la experiencia adquirida en el campo de la difteria y de la peste aviar. Este autor ha demostrado que la termorresistencia de la toxina diftérica, puede ser aumentada por la adición de una cantidad de hidróxido de aluminio. Como es sabido, las propiedades nocivas, más también las propiedades antigénicas, desaparecen si se las somete a un calentamiento de 50-55° C., durante 15-20 minutos. Si antes del calentamiento, se agrega a la toxina una cierta cantidad de hidróxido de aluminio, pierde, en gran parte, sus propiedades nocivas durante el calentamiento; por el contrario sus propiedades antigénicas no son modificadas. Este fenómeno aparece más claramente luego de la centrifugación de la masa calentada, toxina-hidróxido de aluminio, seguido de la elución del sedimento mediante la solución "tampón" alcalina-fosfatada. La intensidad de la elución es determinada con ayuda de la reacción de floculación de Ramón. Schmidt y Oerskov, han podido demostrar que el virus de la peste aviar, se comporta de una manera análoga.

Los resultados de las experiencias concernientes a la fiebre aftosa, pueden resumirse como siguen: A temperatura vecinas a 0° C., los adsorbidos sufren un lento debilitamiento que se manifiesta por la desaparición progresiva del poder patógeno. Al contrario, la propiedad inmunizante de los adsorbidos se mantiene invariable.

Si para conseguir la atenuación, se utilizan temperaturas de 20° a 37°, esta modificación se opera mucho más rápidamente. En este caso, no es solamente la propiedad patógena la que desaparece, sino también en parte, el poder inmunizante del adsorbido. Se puede obtener a 37°, por ejemplo, en 48 horas, la desaparición de la toxicidad de los adsorbidos, mientras que, para la producción de un poder inmunizante correspondiente, es necesario utilizar 10 veces más de adsorbido.

De acuerdo a la temperatura, el tenor en hidróxido de aluminio, juega un rol distinto. Mayor es la concentración en aluminio, más estable es el adsorbido frente al calentamiento.

Es necesario remarcar que las condiciones más abajo mencionadas, son para los adsorbidos húmedos. Si el adsorbido es secado sobre papel, etc., se constata la desaparición, no sólo de la toxicidad, sino también del poder inmunizante.

INMUNIZACION CONTRA DIVERSOS TIPOS DE VIRUS

En las primeras experiencias emprendidas por Schmidt-Jensen, ha sido estudiado solamente el tipo O de virus. Luego fueron preparadas vacunas con los tipos A y C. Los resultados obtenidos con estos últimos adsorbidos demuestran que los tipos A y C se comportan más o menos como el tipo O. Los ensayos emprendidos con vacunas que contienen dos o tres tipos de virus, demostraron que es posible provocar la inmunidad a la vez contra varios tipos de virus, pero desde el punto de vista antigénico, el tipo O se ha mostrado más débil que el C. Por una sola inyección de vacuna, los animales quedan inmunizados sin excepción contra el tipo C. En la mayor parte de los casos se puede constatar también una inmunidad marcada

contra el tipo A; pero después de la prueba de inmunidad frente al tipo O, los animales contraen generalmente una fiebre aftosa generalizada.

Luego una serie grande de cobayos son tratados con una vacuna trivalente.

Una tercera parte se prueba frente al virus O, otra frente al virus A y los restantes frente al C. Todos han sido inoculados en la superficie plantar con 10.000 dosis infectantes. En algunas experiencias, animales que se han mostrado inmunes contra el tipo C, han sido probados frente al tipo O y al tipo A. Se ha observado que los sujetos así tratados poseían una inmunidad sólida contra los otros dos tipos. Parecería que el virus activo inoculado por la vía intracutánea, en la prueba de inmunidad, provoca un proceso no específico, un aumento de la inmunidad contra los tipos de virus heterólogos. Se admite en general que los cobayos que han sufrido un ataque debido a un tipo de virus, quedan receptivos en la proporción de 100 % a los otros dos tipos de virus.

S. Schmidt, utilizando vacunas monovalentes, ha podido comprobar que el virus recogido 48 horas después de la inoculación es, desde el punto de vista antigénico, alrededor de 100 veces más débil que el virus de 24 horas. Se desprende que el virus de aftas secundarias, es decir el virus de animales en estado de generalización, es menos apropiado para la preparación de vacuna. Ha sido demostrado que el virus de cobayo provoca en el bovino una inmunidad muy débil, frente a una infección de origen bovino. Por otra parte el virus bovino, constituye un débil antígeno para los cobayos, de suerte que, estos animales tratados con una vacuna preparada con el virus bovino, contraen generalmente una fiebre aftosa generalizada, si son probados con un virus de cobayo hipervirulento.

Parece paradójal que una vacuna preparada con un suero virulento, provoque una inmunidad mejor que la que podría esperarse de su tenor en virus. La misma constatación ha sido hecha con los adsorbidos que, calentados con precaución, se hacen apatógenos.

La opinión sobre el papel que juega el tenor en proteínas de tales vacunas, es todavía reservado. Sin embargo es interesante observar, de acuerdo a los resultados de los trabajos del Comité inglés de la fiebre aftosa, que la vacuna formulada preparada con suero, ejerce una acción inmunizante relativamente mejor que la vacuna preparada con linfa.

PRODUCCION Y DURACION DE LA INMUNIDAD

En algunos casos, una cierta inmunidad se puede probar al segundo día de la vacunación. Al cuarto día la inmunidad ha aparecido en casi todos los animales. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por la utilización del virus formulado (Gibbs). En consecuencia, cuando el virus está estrechamente ligado al hidróxido de aluminio, los adsorbidos dan al organismo animal, cantidades de antígenos suficientes para provocar la elevación de la inmunidad, tan rápidamente como en los animales tratados con antígenos no adsorbidos.

En los animales tratados por la vacuna de aluminio, la inmunidad se manifiesta a partir del cuarto día y se mantiene por lo menos durante dos meses al mismo grado. Después de tres meses, los animales están inmunizados en la proporción de

casi 100 %, contra una dosis igual a 10.000 veces la dosis mortal inoculada en la superficie plantar. Racién a los 5 meses se constata una disminución de la inmunidad y aún en este momento, la mayoría de los animales están todavía inmunes.

Es justificado adelantar la noción que la inmunidad, provocada por los adsorbidos de virus, no solamente se establece rápidamente, sino que persiste largo tiempo. En realidad la inmunidad así provocada se acerca mucho a la que confiere la enfermedad generalizada. Se comprueba aún que, algunos meses después de haber contraído la enfermedad, los animales no resisten más que parcialmente dosis masivas de virus.

De acuerdo con Gibbs, es distinto para los sujetos tratados con la vacuna formolada. En ese caso es al cuarto día de la vacunación que la inmunidad adquiere su grado máximo; siete días más tarde, algunos animales ya no presentan inmunidad. A los 14 días, 25 % solamente de los animales, quedan todavía inmunes y a los 21 días, todos los animales probados por inoculación, contraen una fiebre aftosa generalizada.

LA ACCION DEL HIDROXIDO DE ALUMINIO SOBRE LAS VACUNAS FORMOLADAS

En 1925, Carré, Vallée y Rinjard, han emprendido con las vacunas formoladas, experiencias de vacunación sobre cobayos y sobre bovinos. Lo mismo que Ramón, han neutralizado diversas toxinas por adición del formol y calentamiento. Vallée y sus colaboradores, han tratado de transformar el virus de la fiebre aftosa en una sustancia no patógena, dotada sin embargo de poder vacunante. Los experimentadores franceses obtienen buen resultado, principalmente en bovinos. El procedimiento no da tan buenos resultados en los cobayos. Ciertos experimentos del Comité inglés de la fiebre aftosa, en el curso de experiencias amplias en el cobayo, han podido provocar una sólida inmunidad, rápidamente establecida. Desgraciadamente, como nosotros lo hemos dicho, es de muy corta duración.

Los experimentadores daneses han realizado una serie de trabajos con virus formolado e hidróxido de aluminio. La suspensión del sedimento lavado, ha dado una vacuna muy activa, mientras que el líquido sobrenadante no pesa ninguna propiedad inmunizante. También ha sido posible demostrar que una simple adición de hidróxido de aluminio a las vacunas formoladas, mejora sus propiedades inmunizantes. La inmunidad conferida por tales vacunas aluminadas, es más larga que la conferida por las vacunas simplemente formoladas.

En las experiencias de S. Schmidt, el virus de cultivo, se comporta en principio como el virus natural, pero los adsorbidos preparados con ellos, son desde el punto de vista antigénico, más débiles que los preparados con virus natural. ¿El virus de cultivo y el virus natural, son diferentes en su calidad? Es una cuestión que aún no ha sido dilucidada. Toussieng, Fogedby, Frenkel y van Waveren, obtienen buenos resultados en los bovinos, con adsorbidos de aluminio, preparados con virus de cultivo, mientras no se comportan tan bien en cerdos.

En el otoño de 1936, hemos tenido ocasión de comunicar los resultados de nuestros trabajos al profesor O. Waldmann y le consultamos si estaba dispuesto a examinar nuestro método. Dado el consentimiento, se han iniciado en el Instituto de Riems experimentos con las vacunas aluminadas, sobre cobayos (Jacobzek, luego

Köbe y Wahl) y en bovinos (Waldmann y Köbe), tanto con adsorbidos activos como adsorbidos inactivados por un calentamiento practicado con precaución. En lo que concierne a los cobayos, los resultados obtenidos por S. Schmidt y sus colaboradores, han podido ser confirmados en principio, a saber: los adsorbidos activos, inoculados por vía subcutánea, son relativamente inocuos, provocando una fuerte inmunidad. Un tratamiento de los adsorbidos por calentamiento, practicado con precaución, permite obtener combinaciones completamente inofensivas y al mismo tiempo conferir una inmunidad fuerte y durable.

Waldmann y Köbe, constataron que en los bovinos, los adsorbidos de virus son infecciosos después de una inyección por vía subcutánea. Por el contrario, en la mayor parte de los casos, los experimentadores obtienen, por calentamiento de los adsorbidos, combinaciones no infectantes que confieren a los bovinos una inmunidad muy favorable. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el cobayo. Waldmann y Köbe, creen que esta técnica no se adapta a las condiciones de la práctica y que la inactivación de los adsorbidos es irregular. Los experimentadores alemanes, mezclando formol con los adsorbidos, obtienen resultados satisfactorios.

Waldmann y Köbe, utilizan virus natural y más tarde también virus de cultivo. El virus en suspensión homogénea, es pasado por el filtro Seitz. Las proporciones son calculadas así: para 100 litros, 50 litros de hidróxido de aluminio, 10 litros de suspensión de virus (conteniendo 7 % de virus puro), 40 litros de solución "tampón" de glicocola, a una dilución que garantice en la mezcla, un pH de 9,0 y 50 cc. de formalina Schering.

La mezcla es agitada durante una hora al abrigo del aire, en aparatos eléctricos apropiados y en seguida se coloca en frascos. Los frascos son conservados durante 48 horas en la estufa a 25°C., luego en la heladera a 3.5° C. Después se ensaya la esterilidad, la inocuidad y las propiedades inmunizantes.

No nos detendremos en los detalles de la experiencia, los que se hallan en las comunicaciones originales de Waldmann y sus colaboradores.

En Alemania se han realizado con seis vacunas experiencias prácticas extendidas. Ha sido posible establecer con seguridad la inocuidad de la vacuna. La vacunación no provoca fiebre alta. Los resultados de la inmunización son notables. La inmunidad aparece en los primeros días de su aplicación y es completa a las dos semanas.

Waldmann y sus colaboradores, han utilizado también en vasta escala vacuna preparada con virus de cultivo. El artículo publicado por Haan y Maas, en el *Münchener tierärztliche Wochenschrift*, del 17 de marzo de 1939, cerca de un año después de la primera vacunación en la práctica, dan un cálculo de los excelentes resultados obtenidos con la vacunación. Los mejores resultados se obtienen con la vacuna preparada con virus bovino. En este caso la producción de la inmunidad es particularmente rápida y regular ya que, a los 3 o 5 días después de la vacunación, la inmunidad llega a un grado tal como para que una parte de los bovinos vacunados, sean protegidos contra una infección por contacto.

La inmunidad se desarrolla más lentamente aplicando vacuna a virus de cultivo. Los que han recibido vacuna a virus bovino, ocho o nueve meses después, resisten una infección por contacto en la proporción del 95 %.

En noviembre de 1938, se comienza a preparar una vacuna, utilizando, con ligeras modificaciones, la técnica de Waldmann y Köbe. Se han preparado hasta el presente 30.000 litros de vacuna, que han servido en Dinamarca y en Suecia, para vacunar alrededor de medio millón de animales. Los resultados obtenidos concuerdan con los de Alemania. No se presentan secuelas vacunales y han detenido la enfermedad aún en las regiones fuertemente infectadas.

Hace algunas semanas, E. F. Fogety y J. Harbo, han comunicado al Office International des Epizooties, en París, los resultados de las experiencias que han realizado con una vacuna no formulada. Estos trabajos son interesantes, en el sentido de que, parecen demostrar, que la vacuna, conteniendo cantidades mínimas de virus, puede provocar una inmunidad muy sólida.

Los autores mencionados, mezclan simplemente el virus filtrado al hidróxido de aluminio y han hecho inocuo al adsorbido por el calentamiento a 37°. De acuerdo con su indicación, 0,1 gr. de virus basta para procurar la inmunidad. Nuevas experiencias serán necesarias para establecer si esta inmunidad es tan durable como luego del empleo de dosis más elevadas de vacuna formulada.

IMPORTANCIA DEL MEDIO DE ADSORCION DEL VIRUS

De acuerdo a lo que se ha observado, los resultados de la adsorción, dependen grandemente del medio en el cual se encuentra el virus Pyl, que como la mayor parte de los experimentadores, se ha servido de soluciones "tampons" para la dilución del virus, ha podido obtener una adsorción suficiente con la utilización de ciertas concentraciones en ionhidrógeno. Además ha sido posible, tratando los adsorbidos por una solución "tampón", extraer el virus. Schmit-Jensen, Schmit y Hansen, han obtenido sin dificultad una adsorción total del virus, sirviéndose de linia virulenta o de extractos de altas diluidas en agua destilada. Se ha podido fijar sobre alúmina el virus diluido sobre una solución "tampón". Pero los experimentadores mencionados, constatan que la liberación del virus, tropieza con dificultades considerables. Los resultados concuerdan enteramente con los observados con el virus de la peste aviar. (S. Schmidt y J. Oerskov). Las experiencias de adsorción y de elución, referentes a estas especies de virus y también al del herpes, de la rabia, de la vacuna, de la enfermedad de Aujeszky, han dado los mismos resultados; el virus se fija fácilmente sobre el hidróxido de aluminio, pero la disociación del complejo es imposible o por lo menos muy difícil. En este último caso, la disociación es parcial, ya que sólo una débil proporción del virus adsorbido puede ser liberada.

MECANISMO DE LA PRODUCCION DE LA INMUNIDAD

¿Cómo se produce la inmunidad después de la inyección de hidróxido de aluminio asociado al virus? Sabemos que in-vitro la elución del virus presenta grandes dificultades y se efectúa parcialmente. ¿Se debe contar con la posibilidad de que el virus activo, se libera en el organismo animal a dosis subinfectantes, provocando una enfermedad sin síntomas? Schmidt, Oerskov y Hansen, han observado, en el curso de sus experiencias, que este proceso es poco verosímil.

Se trata de las experiencias siguientes: dos cobayos son inoculados por vía

subcutánea con un adsorbido de linfa al 1 %. Los animales así tratados son sacrificados en distintos momentos. Se recoge la sangre de corazón y diversos órganos, hígado, bazo, riñón, la orina, la piel de la parte plantar, lengua y ganglios linfáticos. El adsorbido inyectado, es también estudiado en el tejido subcutáneo en el lugar de la inoculación. La sangre, la orina y los diferentes órganos, son minuciosamente triturados con polvo de cuarzo, en una solución "tampón" fosfatada (pH de 7,6), de manera que el volumen total sea 10 cc. Se inyecta enseguida estas suspensiones a cobayos, tanto por inyección intramuscular (1 cc. a cada miembro posterior), como en la parte plantar. Tres cobayos son utilizados para cada experiencia. Los animales han sido probados luego con respecto a la inmunidad, mediante la inoculación de 10.000 dosis mortales en la planta del pie.

Resulta de estas experiencias que el complejo hidróxido de aluminio-virus, después de la inoculación, no provoca en los animales normales, los síntomas de la fiebre aftosa, después de dos a siete horas. Pero es interesante observar que se ha desarrollado una fuerte inmunidad en los animales tratados por los adsorbidos apatógenos. El mismo adsorbido, extraído después de dos semanas de inoculado ha provocado inmunidad en animales normales. La sangre, la orina y las suspensiones de diferentes órganos, han sido encontrados libre de virus y los animales probados, no quedaron inmunizados. Los que impresionan en estas experiencias es que, los adsorbidos que han sido extraídos una o dos semanas después de la infección, han conservado por lo menos en parte, su poder antigénico.

Se ha realizado la siguiente experiencia adsorbidos frescos de virus, conservados 24 horas a 37°, tratados con sueros de animal en convalecencia que habían contraído una fiebre aftosa generalizada, han sido inoculados a animales de experiencias; la inmunidad igualmente se ha establecido en ellos. De estas experiencias, podemos sacar en conclusión, que el virus introducido por vía subcutánea con hidróxido de aluminio, se hace apatógeno al cabo de unas horas y que ese virus apatógeno provoca igualmente una fuerte inmunidad. El hecho de que el antígeno pueda todavía ser demostrado al cabo de las dos semanas de su inoculación, explica en parte la larga duración de la inmunidad conferida. Se debe admitir que durante largo tiempo, pequeñas cantidades de antígeno, provenientes del depósito, circulan en el organismo manteniendo y aumentando la inmunidad.

El virus, diluido en una solución de CINA, inoculado enseguida por vía subcutánea, desaparece rápidamente del lugar de inoculación y, el tejido extraído de ese lugar, no posee propiedades inmunizantes. Por el contrario, el virus puede ser descubierto en la sangre y en los diversos órganos. Es posible demostrar la presencia del virus en la sangre, diez horas después de la inyección. Así, la noción comúnmente expresada de acuerdo a la cual "la generalización aparece en el curso del segundo o tercer día después de la inyección", es incorrecta, porque en este caso, no se tiene en consideración más que las manifestaciones clínicas tales como las aftas secundarias y la pérdida de peso. Es necesario añadir que la reacción local provocada en el lugar de la inoculación por el hidróxido de aluminio, es de una gran importancia para el desarrollo de la inmunidad.

Laboratorio de la fiebre aftosa del Instituto Nacional de Sueroterapia de Copenhague.

A. M. G.