

## VACUNACIÓN ANTIDIFTÉRICA EN BOGOTÁ

## RESULTADOS OBTENIDOS CON LA ANATOXINA DEL INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE SAMPER MARTÍNEZ

Por los Dres. A. PEÑA CHAVARRÍA, O. VARGAS e I. MORENO PÉREZ

*Bogotá, Colombia*

Aún cuando la difteria no constituye en nuestro medio tropical un problema sanitario de gran trascendencia, pues ni la morbosidad ni la mortalidad de dicha enfermedad llegan a constituir guarismos de consideración en el movimiento demográfico de la población, desde el punto de vista sanitario, sí es conveniente cerciorarse de la efectividad de los distintos medios profilácticos de la difteria. Conviene, pues, ensayar en nuestro medio los distintos procedimientos usados en los últimos años en la prevención de la difteria, es decir, la mezcla toxiantitoxina que ha sido aplicada extensamente por los higienistas alemanes y norteamericanos, y la anatoxina, que después de los estudios de Ramon, tiende a aplicarse cada día más: por la mayor protección que da al individuo vacunado; por la ausencia completa de manifestaciones tóxicas y por su bajo precio, factor muy digno de tenerse en cuenta cuando se trata de inmunizar en una colectividad determinada, a un número considerable de individuos; y finalmente, conviene también investigar las propiedades inmunizantes del método de vacunación percutánea preconizado por Lowenstein de Viena. Esta nota la relacionamos con los resultados obtenidos en Bogotá con las dos primeras vacunas y dejamos para una comunicación posterior las investigaciones que hemos comenzado con la vacuna del profesor vienés.

Por otra parte, el accidente desgraciado ocurrido en el mes de noviembre de 1930 al terminar la vacunación de 50 niños de una de las salas-cunas de la ciudad de Medellín, nos obliga a hacer esta publicación para llamar la atención especialísima del cuerpo médico nacional, a fin de que los profesionales, a su vez, levanten el espíritu sanitario del pueblo, afirmando el buen criterio que éste debe tener sobre los asuntos de higiene que lo afectan y quitar de su ánimo la desconfianza y el recelo que pudo haber sembrado aquel luctuoso acontecimiento, para facilitar así un medio práctico muy bien probado, cuyo uso, por ningún motivo, debe retardarse allí, en aquellas de nuestras poblaciones en que las condiciones sanitarias lo justifiquen, en Colombia. Sólo así pueden defenderse, de la desconfianza que destruye y del escepticismo que anula todo esfuerzo, las finalidades redentoras que con sus campañas realiza la higiene, empeñada con entusiasmo en los dos últimos lustros, en una cruzada activísima contra la difteria.

Enfáticamente, debe repetirse que el accidente de Medellín que fué comentado en todos los centros sanitarios, tanto de Europa como de América, no se debió a la anatoxina, sino simplemente a una con-

fusión de dos productos tan distintos como son la toxina diftérica y la anatoxina diftérica. (Véase et BOLETÍN de eno., 1931, p. 81.—RED.)

Como dijimos, dos han sido principalmente los procedimientos usados para la vacunación antidiftérica, la mezcla toxina-antitoxina, que como su nombre lo indica, es una combinación de toxina y antitoxina, en tales proporciones que la acción irritante de la primera queda neutralizada casi completamente por la segunda.

La toxina diftérica es una sustancia que provoca la necrosis de los tejidos que se ponen directamente en su contacto y sumamente tóxica para el organismo en general. Sin embargo, la adición de antitoxina a la toxina, en una cantidad insuficiente para neutralizarla completamente, da una mezcla muy poco tóxica y sí muy inmunizante. Esta mezcla constituye la toxina-antitoxina. La usada por Park<sup>1</sup>, de Nueva York, contiene la cantidad suficiente de toxina, que puede variar según el título, para matar cuatro curies (cobayos) de 300 gramos en 24 horas, a la cual se agrega la cantidad de antitoxina necesaria para neutralizar esa acción tóxica, hasta tal punto que sólo produzca la muerte de un curí en un término que no sea menor de 48 horas. Sin embargo, la poca estabilidad de esa mezcla que puede variar por influencias de naturaleza física, ha dado origen a serios accidentes. A pesar de haberse probado la toxina-antitoxina ampliamente en los Estados Unidos, en donde se han vacunado varios millones de niños, en los últimos diez años se han registrado varios accidentes a consecuencia de su aplicación. El primer accidente ocurrió en Dallas, Texas,<sup>1</sup> en donde emplearon una mezcla que no había sido suficientemente neutralizada causando la muerte de varios niños. Las autoridades sanitarias norteamericanas (Laboratorio [hoy Instituto Nacional], de Higiene de Wáshington) tomaron cartas en el asunto y reglamentaron entonces la producción de dicha mezcla. El segundo accidente, menos grave, sucedió en Boston,<sup>1</sup> en donde usaron varias ampollas que por la refrigeración habían sido congeladas, empleándolas inmediatamente después del deshielo. Los niños inyectados tuvieron tanto síntomas locales como generales, pero sin embargo no se registró ninguna defunción. Se descubrió por este accidente que la mezcla, en ciertas proporciones, puede poner en libertad parte de la toxina por la congelación. Esto llevó a los laboratorios de los Estados Unidos a la producción de una mezcla llamada 1/10 L+ toxina-antitoxina que no se altera por la congelación. En 1925 sucedió en Viena <sup>1</sup> un accidente que no puede en realidad achacarse a la toxina-antitoxina, pues fué idéntico al ocurrido el año pasado en la ciudad de Medellín. En los primeros meses de 1927 ocurrió otro accidente en China según la publicación que hicieron Tsen y Chang.<sup>2</sup> En enero de 1928 ocurrió otro accidente en Mel-

<sup>1</sup> Park, W. H.: Some Important Facts Concerning Active Immunization Against Diphtheria, Am. Jour. Dis. Child. 32: 709 (abre.) 1926.

<sup>2</sup> Tsen, E. T., y Chang, H.: Report on Accident Following Use of Toxin Antitoxin Mixture, China Med. Jour. 41: 41? (mayo) 1927.

bourne (Australia)<sup>3</sup> en que hubo varias víctimas. Este accidente, según informe rendido por una comisión de expertos, se debió a una contaminación de la mezcla y no a toxicidad de la misma.

Los estudios de Ramon dieron origen a la anatoxina, que es simplemente la toxina diftérica modificada por el formol y el calor, que a pesar de perder la mayor parte de sus propiedades tóxicas, conserva las propiedades inmunizantes por determinar la producción de antitoxina en el organismo animal que se inocular. Desde que se comenzó la aplicación de la anatoxina, hasta la fecha, no se sabe de un accidente colectivo debido a este método profiláctico.

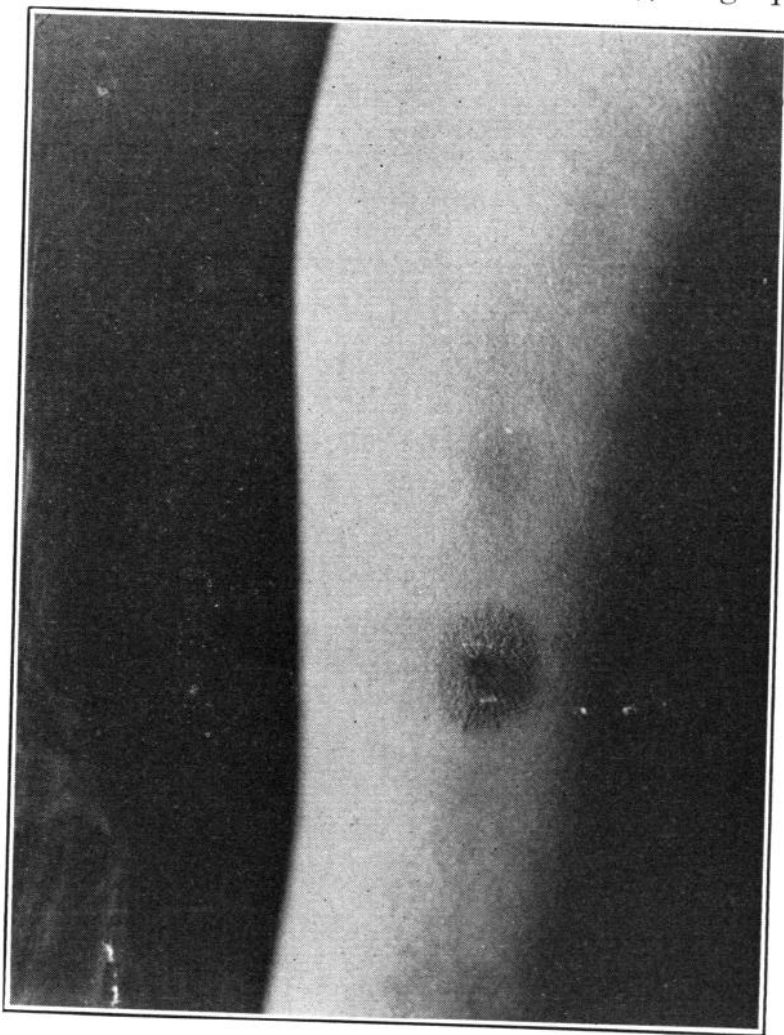
Para comparar los resultados de uno y otro producto, aplicamos la mezcla toxina-antitoxina proveniente de un laboratorio europeo y la anatoxina producida en el Instituto Nacional de Higiene. Tanto en uno como en otro grupo hicimos previamente la prueba de Schick, para vacunar únicamente a los que dieran un resultado positivo, es decir, a los receptivos para la difteria. Con intervalo de una semana se aplicaron las tres dosis inmunizantes, tanto de toxina-antitoxina como de anatoxina; veintidós días después hicimos nueva prueba de Schick (véase la fotografía), para cerciorarnos del número de individuos que habían respondido a la vacunación con la formación de antitoxina diftérica en sus humores.

Tanto con la toxina-antitoxina como con la anatoxina, las reacciones locales y generales fueron mínimas. Sólo pudimos observar, como fenómeno curioso e interesante, que los casos de portadores con Schick positivo, eventualidad que ha sido muy discutida, tenían reacción general más intensa, manifestándose por fiebre y malestar general. Los fenómenos locales que se presentaron, se observaron en las personas vacunadas mayores de 10 años, cosa que está de acuerdo con lo observado por la mayor parte de los que han trabajado en la inmunización diftérica. La ligera reacción local es más apreciable en la segunda y tercera inyección de la anatoxina. Este fenómeno humoral en los que han recibido toxina-antitoxina es claro, pues se debe a la pequeña cantidad de toxina que permanece libre en la mezcla y a la sensibilización producida por el suero de caballo. Estos dos factores reaccionales faltan en la anatoxina en la cual sí existen, como sustancias antigénicas sensibilizantes, las proteínas del mismo medio de cultivo y los productos derivados de la autólisis y del metabolismo del propio bacilo diftérico. Que estos dos últimos productos concurren a determinar las reacciones locales y generales parece indicarlo el hecho de que éstas son más intensas en los convalecientes de difteria, en los portadores, como en nuestro caso, y en los adultos que en una u otra época de la vida han tenido una infección liviana que tal vez ha pasado desapercibida. Que las proteínas del medio de cultivo influyen, también lo indica el hecho de que la vacunación produce

<sup>3</sup> Report of Royal Commission: Toxin-Antitoxin Fatalities at Bundaberg, Med. Jour. Australia, 2: 2 (jul.) 1928.

más reacción en aquellas personas que presentan una seudorreacción con la inoculación intradérmica de toxina calentada.

*Preparación de la toxina y anatoxina diftérica en el Instituto Nacional de Higiene.*—Por los inconvenientes encontrados anteriormente en este instituto para la preparación de una toxina diftérica potente, se estudiaron cuidadosamente los factores que hubieran causado esa dificultad. Con este objeto las distintas semillas traídas de algunos laboratorios de los Estados Unidos, se acostumbraron primero a los medios sólidos (suero coagulado, agar-suero etc.), luego para la pre-



Antebrazo de una niña vacunada con toxina-antitoxina, en el cual se ve la pigmentación dejada por las dos pruebas de Schick. La superior se hizo antes de la vacunación; la inferior, dos meses después, al terminar la vacunación que no produjo inmunización

paración de la toxina usamos varios medios líquidos (caldos), preparados según las fórmulas usadas en el Instituto Nacional de Higiene de Wáshington, los laboratorios de Albany y de la ciudad de Nueva York. Revisados los *buffers* (amortiguadores) usados en la determinación de la concentración de iones de hidrógeno, se ajustó cuidadosamente el  $p_H$  de los caldos a 7.8. Después de varios pases en tubos de los medios indicados anteriormente, se inocularon frascos de Erlenmeyer conteniendo 700 cc. de caldo con las varias semillas diftéricas. Después de siete días de incubación a  $34^\circ$  se obtuvo el crecimiento

típico del bacilo diftérico con su velo característico. Fenolado el caldo al 0.5 por ciento se pasó por la bujía filtrante para la obtención de la toxina.

*Determinación de D L M de la toxina.*—Para cada uno de los caldos se inocularon curies con dosis descendentes de toxina, así:

2 curies Nos. 1 y 2 con 0. 0100 cc. de toxina.

2 curies Nos. 3 y 4 con 0. 0050 cc. de toxina.

2 curies Nos. 5 y 6 con 0. 0025 cc. de toxina.

Con las toxinas obtenidas con los caldos preparados según las fórmulas de Wáshington y de Albany se obtuvo una D L M de 0.005. Con la fórmula del Laboratorio de la Ciudad de Nueva York (Povitzky) se obtuvo una dosis letal mínima de 0.0025 cc. Después de estos estudios que habían permitido el crecimiento del B. diftérico (Park 8) en medios sólidos y líquidos, con la producción del velo característico en el caldo y la obtención de una toxina poderosa con una D L M de 0.0025 cc. suficientemente fuerte preparamos la anatoxina de Ramon.

Para la preparación de la anatoxina diftérica usada en nuestro estudio, nos ajustamos en un todo a los requisitos exigidos por el Instituto Nacional de Higiene de Wáshington en su disposición del 8 de febrero de 1930 que transcribimos para mayor información de nuestros lectores.

#### Requisitos Mínimos de la Anatoxina (Toxoide Diftérico) Instituto Nacional de Higiene de Wáshington

1° El caldo usado para la preparación de la toxina no debe contener carne de caballo.

2° La toxina para preparar la anatoxina (toxoides diftérico) debe tener una L+ no mayor de 0.20 cc. o una D L M máxima de 0.0025 cc.

3° La formalina usada para la detoxificación debe ser la solución de formaldehído de la Farmacopea E. U. A. La cantidad de formalina que detoxifique completamente no debe pasar de la proporción de 0.4 por ciento. La detoxificación debe ser tan completa que cinco dosis humanas (5 cc.) inyectadas subcutáneamente en curies de 300 gms. de peso no produzcan síntomas de envenenamiento, incluso parálisis, en un término de 30 días. Deben inocularse por lo menos 4 animales y de morir alguno antes de los 30 días no debe presentar lesiones de intoxicación diftérica.

4° El poder antigénico mínimo debe ser el siguiente: Diez o más curies de 270 a 300 gms. de peso recibirán subcutáneamente la dosis inicial de anatoxina usada en la vacunación. Al cabo de seis semanas se le inyectarán a cada curí 5 D L M de toxina diftérica. A los 10 días deben sobrevivir por lo menos 80 por ciento de los animales inoculados.

5° Protocolos de la preparación de la toxina, de las pruebas de detoxificación y del poder antigénico con una muestra de 100 cc. de anatoxina serán enviados al Instituto Nacional de Higiene y el lote correspondiente no se pondrá al consumo hasta recibir el permiso respectivo.

6° Se llama la atención de los fabricantes *hacia el peligro que entraña el parecido físico de la anatoxina y la toxina diftérica.*<sup>4</sup> Para evitar la confusión se recomienda poner esos productos en envases diferentes que se usarán exclusivamente para dicho fin.

<sup>4</sup> Per esta razón el Instituto Pasteur agrega a la anatoxina azul de metileno. Nosotros agregamos violeta de genciana que es más desinfectante y menos irritante para los tejidos.

7° La dosis máxima para la vacunación no debe exceder de 1 cc. por inyección.

8° Si se usa la anatoxina en cantidades para la vacunación de varias personas, debe colocarse en ampolletas cerradas a la lámpara, en dosis para cada persona.

9° La fecha de vencimiento será la de 18 meses desde el momento en que quede terminada la preparación de la anatoxina.

La anatoxina empleada en nuestros experimentos de vacunación, además de adaptarse a los requisitos exigidos por el Laboratorio de Wáshington, tiene para corroborar su poder antigénico, ocho unidades anatóxicas, determinadas por la floculación respectiva.

Copia de los protocolos de preparación junto con una muestra de 100 cc. de anatoxina se enviaron al Instituto de Higiene de Wáshington que informó lo siguiente:

WASHINGTON, *dbre. 9 de 1930.*—SEÑOR DIRECTOR DEL INSTITUTO DE HIGIENE SAMPER-MARTÍNEZ.—*Bogotá—Colombia*—MUY ESTIMADO SEÑOR DIRECTOR: Informo a Ud. que la anatoxina (toxoides diftérico) lote No. 1 enviada por Ud. el mes pasado se ajusta a los requisitos de este Instituto. Las pruebas antigénicas demostraron que la dosis de 1 cc. protegieron al 100 por ciento de los curies inoculados con 5 D L M. La floculación de Ramon indicó 8 unidades anatóxicas por cc. De Ud. atentamente (fdo.) G. W. McCoy, Director.

*Resultados obtenidos en la vacunación.*—La inmunización obtenida con la anatoxina del Instituto Nacional de Higiene de Bogotá en 92 personas fué muy superior a la obtenida en los 121 individuos vacunados con toxina-antitoxina. Como puede verse en los cuadros 1 y 2, con el primer producto se obtuvo la inmunización de un 90.2 por ciento de los vacunados mientras que con la toxina-antitoxina sólo se obtuvo un resultado satisfactorio en un 49.6 por ciento.

TABLA 1.—*Resultado de la aplicación de la anatoxina del Instituto Nacional de Higiene Samper-Martínez a 92 personas no inmunes (Schick positivo)*

Edad (años)	Prueba de Schick después de 10 días 3ª inyección			
	Positivo		Negativo	
	Número de casos	Por ciento	Número de casos	Por ciento
4-6.....	1	16.7	5	83.3
6-8.....	2	13.3	13	86.7
8-10.....	4	15.4	22	84.6
10-12.....	1	4.2	23	95.8
12-14.....	1	4.8	20	95.2
14-16.....				
Total.....	9	9.8	83	90.2

Los resultados que hemos obtenido en la vacunación antidiftérica en Bogotá, pueden compararse perfectamente con los logrados en otros países. Así por ejemplo, Zoeller,<sup>5</sup> del Val de Grace, usando la anatoxina del Instituto Pasteur, obtuvo una inmunización en un 81.4

<sup>5</sup> Zoeller, Ch.: La vaccination contre la diphtérie, ses conditions biologiques, Presse Méd. 34: 35 (mayo 26) 1926.

por ciento de los vacunados. Park y Zingher,<sup>6</sup> de Nueva York, con anatoxina del Laboratorio de Higiene de esa ciudad, obtuvieron inmunización en un 86 por ciento de las personas vacunadas. Weinfeld y Cooperstock de Ann Arbor,<sup>7</sup> obtuvieron 92 por ciento. Hanseval y Nelis (citados por Ramon<sup>8</sup>) en Bélgica lograron 94 por ciento de Schicks positivos en niños vacunados.

TABLA 2.—*Resultado de la aplicación de la mezcla toxina-antitoxina a 121 personas no inmunes (Schick positivo)*

Edad (años)	Prueba de Schick después de 10 días 3ª inyección toxi-antitoxina			
	Positivo		Negativo	
	Número de casos	Por ciento	Número de casos	Por ciento
4-6.....	3	42.9	4	57.1
6-8.....	4	40.0	6	60.0
8-10.....	9	45.0	11	55.0
10-12.....	9	34.6	17	65.4
12-14.....	17	65.4	9	34.6
14-16.....	14	63.6	8	36.4
16-18.....	5	50.0	5	50.0
Total.....	61	50.4	60	49.6

#### CONCLUSIONES

En la literatura médica de los últimos cinco años no hay ninguna comunicación que señale accidentes tóxicos producidos por el uso de la anatoxina diftérica en la vacunación de colectividades. El caso ocurrido en la ciudad de Medellín, Colombia, no puede achacarse en ningún modo a la anatoxina, pues como quedó explicado antes, el accidente se debió únicamente a una confusión. En cambio hay muchas comunicaciones de accidentes mortales producidos por la aplicación de la mezcla toxina-antitoxina. La inocuidad absoluta de la anatoxina bien preparada, su costo de producción muy inferior, comparado con el de la toxina-antitoxina y la mayor actividad de las propiedades antigénicas de la primera, hacen que en las labores sanitarias, como elemento de vacunación, se prefiera la anatoxina a la mezcla toxina-antitoxina. Creemos, por nuestra propia observación y por lo publicado por multitud de investigadores, que la anatoxina debe preferirse en la profilaxis diftérica y que debe usarse en Colombia si las condiciones peculiares del país demandaran de las autoridades sanitarias una inmunización grande, cosa que desde luego creemos debe discutirse, teniendo en cuenta la baja morbosidad y mortalidad de la difteria en el trópico.

<sup>6</sup> Park, W. H., y Zingher, A.: Immunity Results Obtained with Diphtheria Toxoid and one-tenth L+Mixtures of Toxin-Antitoxin in the Public Schools of New York, Am. Jour. Dis. Child. 28: 464 (obre) 1924.

<sup>7</sup> Weinfeld, G. F. y Cooperstock, M.: Comparative Effects of Diphtheria Toxoid and Toxin-Antitoxin as Immunizing Agents, Am. Jour. Dis. Child. 38: 35 (jul.) 1929.

<sup>8</sup> Ramon, G., y Helic, I.: Diphtheria Prophylaxis in France: Experiments with Anatoxin Vaccination, Jour. Am. Med. Asso. 91: 1028 (obre 6) 1928.