

TÉCNICA PARA EL CULTIVO DE VACUNA ANTI-VARIOLOSA EN EL HUEVO DE GALLINA

Según el Método de Goodpasture y Buddingh
Modificado por Stevenson y Butler *

(1) *Linfa original*.—Se emplea linfa vacunal glicerizada cultivada en la ternera, la cual ha sido pasada después de ternera en ternera, o de conejo a conejo, o de ternera a conejo por vía epidérmica, y la cual, inyectada en el testículo del conejo, no produce signos macroscópicos de infección, sino, a lo más, cierta tumefacción, aun tras seis pases.

(2) *Primera fase: inoculación del conejo*.—Esta linfa (cuyo contenido bacteriano viene a ser de 5 ó 10 gérmenes por mgm) es inyectada por vía intradérmica en los conejos después de diluída al 1/10 ó 1/20 en suero fisiológico. Al tercero o cuarto día de la inyección, después de haberse formado bien las pápulas, se sacrifica el conejo, se alza la piel asépticamente, y se recoge el virus por la cara inferior de las pápulas. La cantidad de virus recogido es pequeña (aunque en un caso se obtuvo resultado positivo por vía intradérmica en el conejo a la dilución de 1/1,000), pero con tal que no se diluya demasiado en suero fisiológico (lo habitual es dos o tres partes de exudado por una parte de suero), basta para iniciar la infección de la membrana del huevo. El material recogido de las pápulas dérmicas de un solo conejo basta para inocular a 12 huevos fértiles.

(3) *Segunda fase: inoculación del huevo*.—Se colocan huevos fértiles de gallina en una incubadora. A los 10 a 11 días se sacan de la incubadora. La cámara aérea en el interior del huevo, visible por su transparencia, se señala, y se demarca precisamente en el cascarón la zona destinada a la apertura en la parte más opaca, que corresponde a la posición del embrión. El huevo es colocado en un soporte de manera que la cámara de aire quede sumergida en un baño caliente a 38° ó 40° C. La zona que se va a abrir es frotada con alcohol (a veces con la adición de tintura de yodo), se deja secar, y se practica un agujerito con la punta fina de un bisturí o tijeras. Todos los instrumentos, por supuesto, han sido esterilizados a una llama de alcohol. Es posible que la incisión ya haya perforado la membrana. De otro modo, se la incinde, poniendo al descubierto el alantocorion (de color rosado). Quizás éste haya sido averiado, en cuyo caso se observará una levisima hemorragia, pero esto no perjudica la vitalidad del embrión. Se deposita entonces en la membrana, con una pipeta

* Véase también la p. 884.

capilar estilo cuentagotas, una columnita de 3 ó 4 cm de altura del cultivo. No se lesiona expreso el alantocorion antes de la inyección. La apertura del cascarón se tapa luego con parafina a una temperatura precisamente superior al punto de fusión (50° C.). También se han empleado discos de mica y de colodión, pero la parafina es lo mejor. Los huevos son secados en seguida, numerados para identificación, y repuestos en la incubadora de manera que la apertura quede a un lado, pero hacia la cara inferior del huevo. Los huevos son volteados por la mañana y por la tarde, y se sacan cada día durante 15 minutos para dejarlos enfriar. La incubación prosigue en esa forma durante cuatro días a 39° ó 40° C. en una incubadora especial, al cabo de cuyo tiempo se abren los huevos asépticamente. La mitad del huevo correspondiente al extremo puntiagudo se sumerge en alcohol y pasa por la llama antes de abrirlo. Se seccionan asépticamente el cascarón y su membrana en una superficie suficiente; se incide, con unas tijeras el alantocorion, y se vacía el contenido; por lo general, el alantocorion queda adherido a la membrana del cascarón, de la cual puede ser fácilmente desprendido después de seccionar el pedículo unido al embrión. El alantocorion es colocado en una placa de Petri estéril, lavado con agua estéril, y la porción infectada cortada con tijeras.

(4) *Tercera fase: preparación y conservación de la linfa.*—En el primer pase de la cepa por el alantocorion del huevo la infección es ligera por la pequeña cantidad de virus presente, y lo más general es obtener pápulas aisladas de diversos tamaños. Recogidas éstas asépticamente, pueden ser trituradas en un mortero con suero fisiológico (a una dilución de 1/10 o algo mayor), o conservadas en la nevera a una temperatura de —10° C. por dos meses, y probablemente más tiempo. Han sido conservadas así en una mezcla a partes iguales de agua y de glicerina, y lavadas dos veces en agua en el momento de emplearlas, a fin de eliminar la glicerina. Ese material del primer pase se presta admirablemente para inoculación y para obtener grandes cantidades de linfa vacunal. Después de triturado en un aparato modificado de Chalybaus en presencia de una cantidad cuatro veces mayor por peso, de una mezcla de glicerina y de agua destilada a partes iguales, más 0.1 por ciento de esencia de clavo, se ha obtenido de ese material suficiente linfa para vacunar a más de 7,000 personas.

(5) *Cuarta fase: comprobación de la esterilidad y actividad.*—La linfa es inmediatamente comprobada en cuanto a esterilidad como sigue: (a) se mezcla 0.1 cc en placa de agar vertido; (b) se hacen estrías en placas de agar sólido; y (c) con respecto a gérmenes anaerobios se comprueba 0.1 cc de la linfa en medio de carne cocida en rígida anaerobiosis. Las linfas contaminadas se tiran. En lo que toca a potencia, la sustancia se ha mostrado en el conejo absolutamente comparable

a la linfa vacunal de ternera. Cuando esa linfa de membrana de embrión de pollo diluída al 1/100 ó 1/1,000 en suero fisiológico, es aplicada a zonas escarificadas del conejo, se observa una lesión absolutamente semejante a la producida por la aplicación de linfa vacunal de ternera, y cuando se aplica a conejos inmunizados con linfa vacunal de ternera, no produce infección.

NOTA.—La diferencia primordial entre la técnica de Goodpasture y Buddingh y la de Stevenson y Butler, es que los primeros toman la membrana de huevo infectada por el primer pase, la trituran, filtran por una bujía Berkefeld N, comprueban su esterilidad en medios de cultivo, y de resultar estéril reinoculan el sedimento centrifugado a otros huevos, continuando los pases entonces sucesivamente en el huevo, sin necesidad de pases por mamíferos. Stevenson y Butler emplean la inoculación primaria en el conejo antes de pasar la linfa al huevo y, al parecer, no comprueban la esterilidad antes de la inoculación en el huevo.

BIBLIOGRAFÍA

- Woodruff, A. M., y Goodpasture, E. W.: *Am. Jour. Path.*, vol. 7, p. 209, 1931.
Woodruff, A. M., Goodpasture, E. W., y Buddingh, G. J.: *Science*, vol. 74, p. 371, 1931; *Am. Jour. Path.*, vol. 8, p. 271, 1932.
Stevenson, W. D. H., y Butler, G. C.: *Lancet*, vol. 225, p. 228, 1933; *Off. Int. Hyg. Pub., Bull. Mens.*, vol. 26, p. 64, 1934.

Protección contra el calor en los trópicos.—Ante la Real Sociedad de Medicina Tropical de Londres, Crowden demostró que la mejor manera de aislar contra el calor las tiendas, cabañas, cajas o sombreros, consiste en proveerlos con una cámara de aire que contenga una hoja de amianto cubierta por ambos lados de papel metálico, por ejemplo, aluminio. Un trozo de hielo guardado en un recipiente aislado de este modo, retuvo casi la mitad de su volumen al cabo de 23 horas, mientras que otro trozo semejante en un recipiente corriente se había derretido por completo. Los sombreros tropicales aislados de este modo, también se hallaban de 3° a 4° C. más frescos a la luz del sol tropical.—Apud, *U.S. Nav. Med. Bull.*, 362, jul. 1934.

La herencia en la esclerosis en placas.—A fin de determinar el papel de la herencia en la esclerosis en placas, Curtius (*Deut. med. Wchnschr.*, 279, fbro. 24, 1933) examinó a 3,127 miembros de 56 familias de enfermos. De 749 en quienes descubrió anomalías neurológicas o psiquiátricas, sólo 3 por ciento habían sido considerados como defectuosos en estudios realizados por otros. Las neurosis y psicosis fueron 1.64 veces más frecuentes en la familias de los enfermos, que en la población en general, y su frecuencia disminuyó en razón directa al grado de parentesco. La mayor frecuencia familiar, es en gran parte efecto de factores hereditarios, pues la proporción es de 12 a 3 comparado con la población general, mientras que las enfermedades debidas a factores ambientales acusan aproximadamente la misma frecuencia en ambos grupos. Una constitución hereditaria desfavorable desempeña, pues, un papel importante en la patogenia de la enfermedad.