

ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA DE LA INMUNIZACION
CONTRA LA POLIOMIELITIS

POR ALFREDO N. BICA, M.D., M.P.H.

Jefe, Servicio de Enfermedades Transmisibles, Oficina Sanitaria Panamericana

El control de la poliomielitis constituye aún uno de los más agudos problemas de salud pública, a pesar de los múltiples esfuerzos, tiempo y dinero invertidos en darle una solución satisfactoria. La quimioterapia ha resultado hasta ahora desalentadora. Las medidas sanitarias y de cuarentena rinden poco o ningún efecto. La profilaxis se complica aún más debido a que los portadores asintomáticos y los casos abortivos constituyen la mayor fuente del virus. Por lo tanto, en la actualidad la esperanza de control de la enfermedad parece cifrarse en la inmunización.

Hace unos años las posibilidades de obtener una inmunización contra la poliomielitis parecían lejanas. Hasta fecha reciente existían varios factores que obstaculizaban la investigación en poliomielitis. En primer lugar, no podía cultivarse el virus, y por lo tanto sólo podía identificarse con certeza por medio de la inoculación en animales, y con la aparición consecutiva de la enfermedad. Dada la afinidad selectiva del virus por el hombre, los antropoides y los monos, resultaba muy costosa la inoculación de animales. Además, el virus sólo se multiplicaba en el tejido nervioso, medio que, por razones evidentes, tiene muy serias limitaciones. Otro inconveniente consistía en la falta de conocimientos relativos a los tipos de virus y a sus diferencias inmunológicas, tipos y diferencias que podían ser muy bien la causa de muchas de las discrepancias observadas en los estudios de laboratorio.

Sin embargo, recientes adelantos en la técnica de laboratorio inducen a creer que el dominio de esta enfermedad puede hallarse próximo. Los progresos más importantes en el estudio de la poliomielitis en años recientes, comprenden: (a) la identificación de tres diferentes tipos inmunológicos de virus; (b) la adaptación de los tres tipos de virus al ratón; (c) el cultivo del virus de la poliomielitis en cultivo de tejidos; (d) la importancia de la "viremia" en la patogénesis de la enfermedad, y

(e), el efecto protector de los anticuerpos en los animales de experimentación, ya sean dichos anticuerpos transferidos pasivamente o producidos por vacunación. Estos hallazgos y muchos otros, basados en los trabajos de numerosos investigadores, han conducido a un concepto enteramente nuevo de la patogénesis de la poliomielitis.

Trataremos de resumir en este trabajo esos nuevos descubrimientos que han servido de base a los nuevos métodos de control actualmente en desarrollo.

TIPOS INMUNOLÓGICOS DEL VIRUS DE LA POLIOMIELITIS

La primera prueba de la existencia de más de una variedad inmunológica del virus de la poliomielitis fué ofrecida por Burnet y MacNamara (1) en 1931. Estos autores demostraron que el virus aislado de un niño durante la epidemia de Victoria, Australia, era diferente del virus Rockefeller M.V., tanto en las pruebas de inmunidad cruzada, como en las de neutralización. Este hecho fué confirmado por Paul y Trask (2). En fecha más reciente Bodian, Morgan y Howe (3) por una parte, y Kessel y Pait (4) por otra, en investigaciones independientes llevadas a cabo con 14 virus por aquéllos y con 12 virus por éstos sobre la relación antigénica, han demostrado la existencia de por lo menos tres tipos inmunológicos básicos.

En 1948, la Fundación Nacional contra la Parálisis Infantil de Estados Unidos decidió emprender una investigación sistemática de la frecuencia y distribución de los diferentes tipos inmunológicos del virus de la poliomielitis. Esta investigación fué llevada a cabo en los laboratorios de cuatro universidades norteamericanas (las de Kansas, Pittsburgh, Southern California y Utah) por varios investigadores bajo la dirección de un Comité de Clasificación, el cual planeó asimismo los trabajos.

En 1951 (5) se publicó un informe preliminar de esta investigación, en el cual se presentaron los resultados de las primeras 100 cepas clasificadas.

Posteriormente, en 1953, el Comité de Clasificación de la Fundación Nacional contra la Parálisis Infantil (6) dió a conocer los resultados obtenidos al clasificar 130 cepas adicionales.

Las pruebas de neutralización cruzada y de resistencia cruzada en los ratones y en los monos, han confirmado la existencia de por lo menos tres tipos antigénicos principales de virus de la poliomielitis, poseyendo cada uno de ellos características antigénicas bien definidas. Estos grupos se denominan según las cepas prototipo: Brunilda (tipo 1), Lansing (tipo 2) y León (tipo 3). Los escasos datos disponibles hasta el presente indican la posible existencia de subtipos.

La cepa original Brunilda fué aislada de la médula espinal de un chimpancé de ese nombre inoculado en 1939 con una mezcla de especímenes de heces de enfermos graves de poliomielitis parálitica de Baltimore. En 1938 se obtuvo el virus Lansing del sistema nervioso

central de un enfermo muerto en Lansing, Michigan. La cepa León se obtuvo en 1937 del cerebro y médula espinal de un niño de 11 años llamado León, víctima de la enfermedad en Los Angeles. La identificación de los tres tipos se basa en dos hechos: primero, no producen protección cruzada de importancia contra la parálisis en los animales de laboratorio; segundo, cada uno de ellos no puede ser neutralizado por sueros inmunes específicos para los otros dos. Howe (7) manifiesta que este criterio es algo artificial, puesto que se basa exclusivamente en experiencias de laboratorio y por lo menos es posible que, en condiciones de exposición natural, se produzca entre los tipos alguna inmunidad cruzada. Recientes observaciones de Casals y colaboradores (8), Sabin (9), y Cabaso y colaboradores (10) sugieren la existencia de superposición antigénica dentro del grupo de virus de la poliomiélitis.

Los resultados de las 196 cepas de poliomiélitis clasificadas satisfactoriamente de acuerdo con el criterio establecido por el Comité de Clasificación, presentaron la siguiente distribución:

<i>Tipo</i>	<i>Número</i>	<i>Por ciento</i>
Brunilda (1).....	161	82.1
Lansing (2).....	20	10.2
León (3).....	15	7.7
	—	—
Total.....	196	100.00

Ciento setenta de las 196 cepas procedían de Norte América, la mayoría de los Estados Unidos. El tipo 1 constituía la variedad predominante, lo mismo entre las cepas de Norte América que entre el pequeño grupo tomado de otras partes del mundo.

Es claro que será necesario clasificar muchas cepas más antes de que se revele el verdadero cuadro de la frecuencia de la ocurrencia y distribución geográfica de los diferentes tipos inmunológicos. Al escoger las cepas examinadas en este estudio se tuvo en cuenta el hecho de hallarse éstas al alcance de los investigadores, más bien que cualquier otra consideración.

Recientemente, mediante cultivos histológicos, se obtuvo un número de nuevas cepas del tipo 3 (León), lo que sugiere que este tipo es mucho más común de lo que parecen indicar las cifras arriba citadas.

No es posible establecer relación alguna entre el tipo clínico de la enfermedad y el tipo del virus. Sin embargo, el informe del Comité de Clasificación indica que existen indicios de que la enfermedad producida por el virus del tipo 2 (Lansing) es más grave y que cuando la enfermedad se presentó, la forma bulbar fué más frecuente que con las infecciones de virus tipo 1 y 3. Sin embargo, como señala el Comité, "las cepas estudiadas provienen de una categoría de enfermos altamente seleccionados y la correlación que pudiera encontrarse en ejemplares escogidos al

azar sólo puede ser objeto de conjeturas". También indicaron los datos disponibles que los portadores asintomáticos del tipo 1 se presentan con mayor frecuencia que los portadores de los demás tipos. Sin embargo, es necesario realizar nuevos estudios para llegar a comprender mejor las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad producida por los diferentes tipos inmunológicos de virus de la poliomiélitis.

La existencia de múltiples tipos inmunológicos explica los raros casos de segundos ataques paralíticos, según comunicó recientemente Bodian (11). Un niño sufrió su primer ataque a la edad de 3 años y el segundo a la edad de 12 años. Al producirse el segundo ataque el suero del enfermo sólo contenía vestigios de anticuerpos de tipo León y poseía un alto nivel de anticuerpos Brunilda. Pero se aisló un virus de tipo semejante al León. Pasada la convalecencia su suero había adquirido un alto título de anticuerpos León.

ADAPTACIÓN DE LOS VIRUS DE LA POLIOMIELITIS AL RATÓN

En los 30 años transcurridos desde que Landstene (12), en 1908, probó que podía producirse la poliomiélitis en los monos, estos animales y los chimpancés eran los únicos animales de laboratorio adecuados para realizar estudios sobre la enfermedad. Estos animales resultan costosos, siendo necesario además disponer de facilidades especiales para su manejo. Por lo tanto muchos investigadores trataron de cultivar el virus de la poliomiélitis en otros animales o en cultivo de tejidos.

En 1939, Armstrong (13) adaptó, primero a las ratas algodoneras y luego a los ratones, la cepa de tipo 2 (Lansing) del virus de la poliomiélitis.

En 1951, Li y Habel (14), notificaron haber adaptado al ratón la cepa tipo 3 (León) empleando la vía intraespinal.

En el corriente año, Li y Scheffer (15) describieron la adaptación al ratón del virus tipo 1 de la poliomiélitis empleando una combinación de dos técnicas inmunológicas: la del cultivo de tejidos y la de la inoculación intraespinal.

Con esto, los tres tipos de virus de la poliomiélitis se han adaptado ya al ratón, lo que permitirá un progreso más rápido en los estudios epidemiológicos y de laboratorio de la enfermedad. Aunque el aislamiento primario del virus de la poliomiélitis no es posible aún en el ratón, la adaptación de tres tipos de virus a este animal permitirá llevar a cabo pruebas serológicas e inmunológicas rápidas, de fácil reproducción y económicas.

CULTIVO DE LOS VIRUS DE LA POLIOMIELITIS EN TEJIDOS

Desde que Landsteiner demostró que la poliomiélitis puede producirse en los monos, se han publicado numerosos (16-19) informes sobre el éxito obtenido en el cultivo del virus de la poliomiélitis en medios histológicos procedentes de una cantidad de mamíferos. Exceptuando los

resultados obtenidos por Sabin y Olitsky (20), que presentaron pruebas convincentes relativas al desarrollo del virus en cultivo de cerebro embrionario humano, ninguno de los otros informes pudieron ser confirmados por otros investigadores hasta que Enders y colaboradores (21-37), en una serie de trabajos, los primeros publicados en 1949, demostraron que los tres prototipos de virus de la poliomiélitis (Brunilda, Lansing y León) podían ser cultivados en tejido humano o de monos. Dichos investigadores utilizaron piel de embrión, músculos y cerebros humanos tomados de embriones y riñones, prepucio y útero de humanos adultos. Otros investigadores confirmaron esas observaciones y demostraron que el testículo humano o de monos, así como los riñones de monos (28-31), pueden proporcionar también substratos adecuados para el cultivo *in vitro* de los virus de la poliomiélitis.

Se han empleado dos técnicas en la propagación de los virus de la poliomiélitis en cultivo de tejidos: (a) la técnica de Maitland o de células suspendidas en frascos de cultivo y (b), el cultivo en tubo rotatorio.

En el primero, el tejido triturado se coloca en un frasco de Erlenmeyer y se cubre con un medio nutritivo (solución de sales y ultrafiltrado de suero de buey). A fin de reducir la contaminación bacteriana se agregan penicilina y estreptomycin. Después de la inoculación del virus, se incuban los frascos a 35°C y los subcultivos del virus se efectúan después de 16 a 25 días de incubación.

Esta técnica ha sido reemplazada por el método del tubo rotatorio, que consiste en incrustar fragmentos diminutos de tejido en un coágulo de plasma extendido en la pared interior de un tubo de ensayo. Se agrega el líquido nutritivo (solución equilibrada de sales, suero de caballo, extracto embrionario de bovino y filtrado de suero de buey) y se coloca el tubo horizontalmente en un tambor (situado en una incubadora a 35°C), que gira lentamente por medio de un motor eléctrico. La rotación hace que el líquido nutritivo moje los fragmentos de manera que se mantengan húmedos. En contraste con la técnica de cultivo en frasco de Freeumeryer, en el cual las células que forman el tejido simplemente sobreviven o cuando más se multiplican lentamente, el método del tubo rotatorio produce un crecimiento de nuevas células, observable bajo el microscopio, por un período indefinido de tiempo.

Al introducirse el virus de la poliomiélitis en el cultivo de tejido, se producen alteraciones degenerativas en las células de los tejidos (efecto citopatogénico o citotóxico) que pueden observarse directamente bajo el microscopio. Puede juzgarse el crecimiento del virus por las alteraciones en el pH; en los cultivos no infectados baja el pH del tejido que metaboliza activamente, mientras en los cultivos infectados el tejido no metaboliza con la misma efectividad, y por lo tanto el pH no baja en la misma proporción.

Las alteraciones citopatogénicas van asociadas específicamente al crecimiento del virus, como lo demuestra el hecho de que no ocurren en los tejidos no inoculados y también porque es posible impedir su desarrollo agregando al sistema suero específico.

Los cultivos en tubo rotatorio pueden utilizarse en el estudio de varios de los problemas que plantea la poliomielitis. Este procedimiento brinda la manera de aislar el virus de la poliomielitis de material infectado y de propagarlo por tiempo indefinido fuera del cuerpo del animal, de determinar así su infecciosidad, su tipo antigénico y de investigar las propiedades antivirales de drogas y antibióticos.

El aislamiento del virus se realiza inoculando los cultivos de tejido con suspensiones centrifugadas del material sospechoso. La sensibilidad del método de cultivo de tejido para el aislamiento del virus es comparable a la de la inoculación en el mono. La presencia del virus queda demostrada por su efecto citopatogénico en las células vivas.

La clasificación del virus resulta posible debido a la inhibición de su efecto citopatogénico producida por el antisuero específico. Si se introduce suero que contenga anticuerpos específicos contra el tipo de virus utilizado para infectar las células, éstas sobrevivirán. Por otra parte, si el suero agregado contiene anticuerpos contra un tipo de virus diferente del utilizado para infectar las células, éstas sufrirán cambios patológicos.

Esta técnica también permite la titulación del virus contenido en distintos materiales. Inoculando diluciones cada vez mayores de una suspensión de virus en series de cultivos en tubo rotatorio, es posible establecer límites definidos de ineffectividad según lo indica el mayor grado de dilución capaz de provocar la necrosis de las células.

El método parece ser de utilidad en los estudios de las necesidades metabólicas del virus, los cuales pueden conducir al descubrimiento de un agente quimioterapéutico eficaz (32).

Con la técnica del cultivo de tejido es posible obtener grandes cantidades de líquido con virus relativamente libre de proteínas contaminantes y de otros derivados de los tejidos. Estas substancias pueden servir como fuente de virus para vacuna (33) o como antígenos empleados en las pruebas de fijación de complemento (34).

Además, Enders y colaboradores observaron que la propagación del virus en cultivos de tejido puede ir seguida de una reducción en la patogenicidad para los animales inferiores. El virus sin embargo, puede provocar inmunidad activa en los animales de experimentación. Este hecho sirve de estímulo a nuevas investigaciones de la misma clase tendientes a desarrollar variantes cuya falta de virulencia para el hombre permita su empleo como agentes profilácticos específicos.

El método de cultivo de tejido, aunque no tan sencillo como algunas técnicas aplicables a otros agentes de virus, parece, sin embargo, más conveniente, económico y, en ciertos casos, más rápido que los métodos estándar empleados ahora en el estudio del virus de la poliomielitis.

Gracias a él se evita el uso de monos, por lo menos en algunos de los experimentos en gran escala sobre aislamiento, neutralización y clasificación de virus, procedimientos que, en épocas pasadas, resultaban tan engorrosos y caros.

Por último, el descubrimiento de que el virus de la poliomielitis puede cultivarse en tejido extraneural dará un gran impulso a las investigaciones mundiales sobre esta enfermedad, puesto que la nueva técnica permite la entrada de nuevos investigadores en este campo, antes cerrado para ellos por los gastos y otras dificultades.

PATOGÉNESIS DE LA POLIOMIELITIS

En la actualidad es opinión casi unánime que el virus de la poliomielitis se propaga por contacto de persona a persona y que penetra en el organismo por vía oral. Hay también unanimidad en cuanto a que su salida del organismo infectado se verifica con la expulsión de los productos de desecho, aunque no es claro si el vehículo principal son las secreciones nasofaríngeas o las heces fecales.

Se admitió por muchos años que el virus penetraba en el organismo por las terminaciones nerviosas de la mucosa olfatoria, desde donde pasaba al cerebro a través de la placa cribosa del etmoides para continuar luego hacia atrás y hacia abajo a lo largo de la médula espinal. Esta opinión estaba avalada por la imposibilidad de encontrar el virus en la sangre y en el líquido céfalorraquídeo tanto de los animales de laboratorio como de los humanos paralizados por la enfermedad.

No es posible defender por más tiempo esta teoría a la luz de los numerosos descubrimientos realizados durante los últimos 15 años. Los estudios recientes han descartado efectivamente la mucosa olfatoria como puerta de entrada del virus, al demostrarse que el bulbo olfatorio de los poliomielíticos humanos fallecidos no presentaba las lesiones características ni contenía el virus (37).

La demostración concluyente de que el virus es en primer lugar un parásito del aparato digestivo, dió lugar a la hipótesis, corriente y muy difundida, de que el virus probablemente penetra desde el tubo digestivo (orofaringe o intestino delgado) al sistema nervioso central a lo largo de las fibras nerviosas de los nervios sensoriales o autónomos.

Sin embargo, a pesar de que algunas pruebas de experimentos señalan los nervios que podían estar complicados (quinto, séptimo y noveno pares de nervios craneanos), las pruebas provenientes de casos humanos no han sido nunca, ni son aún concluyentes, excepto quizás en los casos de poliomielitis bulbar consecutiva a la tonsilectomía.

Algunos experimentos indican la posibilidad de que en ciertas condiciones especiales el virus puede llegar al sistema nervioso central desde la periferia por una vía no neural. German y Trask (38) demostraron que podía presentarse infección poliomielítica en los animales que recibían

la inoculación del virus en extremidades completamente desnervadas. Trask y Paul (39), y Melnick (40) demostraron que el virus puede aparecer en las heces de monos y chimpancés después de la inoculación subcutánea, sin signos clínicos de ataque del sistema nervioso central.

Algunas observaciones recientes, que se ofrecen a continuación, señalan la necesidad de revisar la interpretación de la patogénesis de la poliomielitis:

(a) De primordial importancia fué el descubrimiento de Enders y colaboradores de que el virus de la poliomielitis puede multiplicarse en tejidos no nerviosos. Esta fué la primera indicación de que el virus no es puramente neurotrópico. Aunque en aquella época no se prestó gran atención al descubrimiento, desde entonces se ha podido comprobar que tiene vital importancia.

(b) El reciente descubrimiento de que los anticuerpos se encuentran ya presentes en el suero de los enfermos al comenzar la parálisis (41, 42), explica los repetidos fracasos de los intentos de encontrar el virus en la sangre de los casos paralíticos.

(c) Los trabajos experimentales aun más recientes de Bodian y Horstmann que demuestran la presencia de una viremia en monos *cynomolgus* y en chimpancés, en el período de incubación que sigue a la administración oral del virus.

La mayor parte de los estudios recientes sobre poliomielitis se han hecho en chimpancés, que parecen reaccionar a la infección en forma muy parecida a la del hombre. Al administrárseles el virus rara vez desarrollan la forma paralítica de la enfermedad, sino que se convierten en portadores intestinales durante varias semanas o meses y desarrollan anticuerpos contra el virus que han recibido. Los aspectos clínicos y patológicos de la poliomielitis parecen ser los mismos en ambas especies.

Horstmann (43) comunicó haber aislado virus de la sangre de chimpancés y de monos *cynomolgus* infectados por vía oral. Siete de los diez monos *cynomolgus* y tres de los chimpancés presentaron viremia en la fase inicial de la incubación consecutiva a la infección oral con virus de poliomielitis. La viremia persistió en algunos de los animales hasta después del cuarto, quinto y sexto días de la ingestión del virus.

Bodian (44) infectó chimpancés por el simple método de añadir virus a los alimentos y después estudió detenidamente a los animales en cuanto a la fecha de la excreción fecal del virus, virulencia, parálisis y formación de anticuerpos en el suero.

Los resultados fueron muy interesantes y por lo tanto los detallamos a continuación.

De 4 chimpancés 2 revelaron parálisis al cabo de 13 y 17 días, y se aisló el virus de la corriente sanguínea al octavo y quinto días respectivamente. Se observó marcada elevación en el título de anticuerpos inmediatamente después de producirse la viremia. El tercer chimpancé

presentó viremia al octavo y undécimo días de haber recibido el virus, e inmediatamente después se observó marcada elevación del título de anticuerpos; el animal no mostró signos clínicos de infección, pero al sacrificarlo dos meses después se encontraron las típicas lesiones histológicas de la poliomielitis en la médula espinal. El virus se hallaba presente en las heces de los tres chimpancés.

No se aisló virus de la sangre del cuarto chimpancé al octavo día de haber ingerido el virus y con anterioridad a la aparición de anticuerpos en el suero, la respuesta de los anticuerpos fué lenta, y no se descubrió señal alguna de complicación del sistema nervioso central al sacrificar el animal a los 22 días. A pesar de un elevado título de anticuerpos durante la tercera y cuarta semanas, aun persistía la excreción de virus en las heces. Esto se observó también en el primer chimpancé el día de la parálisis, en que los anticuerpos del suero al parecer impidieron la viremia, pero no eliminaron el virus del aparato digestivo.

Resulta interesante observar que los tres animales que presentaban viremia sufrían infección del sistema nervioso central.

Recientemente Bodian (45) presentó pruebas más directas, obtenidas en experimentos con monos *cynomolgus*, que confirman el concepto de la diseminación del virus desde la sangre al sistema nervioso central después de la ingestión del virus. En una serie de 23 monos *cynomolgus* que ingirieron el virus, 12 revelaron parálisis y 11 permanecieron sin alteración. Al séptimo día se demostró viremia en seis de los 12 que después sufrieron parálisis, pero no en los once restantes. Siete de los monos paralíticos que fueron sangrados el día que se inició la parálisis, no revelaron viremia en esa fecha.

Tomando como base sus descubrimientos y una nueva evaluación de las anteriores pruebas científicas, Bodian propone un nuevo concepto de la patogénesis de la poliomielitis. Postula la existencia de tres fases en la multiplicación del virus. Primero, la fase alimenticia, que afecta la mucosa de la región orofaríngea y parte del aparato digestivo inferior, especialmente el íleo. Segunda, la fase vascular, que afecta la sangre y órganos estrechamente relacionados con la corriente sanguínea (ganglios linfáticos, bazo, riñones, y quizás otros), y puede iniciarse por la penetración del virus desde el aparato digestivo a la corriente sanguínea y a los ganglios regionales.

Mediante pruebas experimentales Bodian demostró que la fase vascular es la que provoca una mayor y más rápida producción de anticuerpos en el suero, y también que la fase alimenticia, en ausencia de la vascular, puede producir niveles de anticuerpos del suero de 1:100 y más, pero con una producción más lenta que la observada en los casos con viremia.

La tercera fase del desarrollo del virus, la fase neural, no sólo afecta el sistema nervioso central sino también tejidos tales como los ganglios sensoriales, los cuales son invadidos rápidamente por la propagación

centrífuga, a partir del sistema nervioso central, a lo largo de las raíces de los nervios sensoriales. El virus puede penetrar en el sistema nervioso central no sólo por los nervios que terminan en el tubo digestivo, sino también por la vía sanguínea, posiblemente (si se tienen en cuenta ciertos hallazgos histológicos), pasando por el área postrema situada en la base del cuarto ventrículo. Tal penetración por un solo lugar explicaría la distribución restringida de la enfermedad en el sistema nervioso central, por cuanto una diseminación mayor del virus en dicho sistema se verificaría por los canales nerviosos. La fase neural del desarrollo del virus contribuye poco a la producción de anticuerpos en el suero sanguíneo.

Este nuevo concepto, propuesto por Bodian, puede resumirse como sigue: (a) El virus que se encuentra en el aparato digestivo es absorbido por la sangre. (b) Al parecer el virus se multiplica en los órganos estrechamente relacionados con la sangre, y se inicia al mismo tiempo la rápida producción de anticuerpos específicos. (c) El virus puede penetrar en el sistema nervioso central desde la corriente sanguínea, pasando por las paredes de los vasos sanguíneos en una parte determinada, de alta permeabilidad, en la base del cuarto ventrículo. Este paso del virus desde la corriente sanguínea al cerebro se produce durante el breve período en que no existen en la sangre anticuerpos en cantidad suficiente para inactivar el virus.

Bodian (46) demostró recientemente que los niveles apenas perceptibles de anticuerpos pasivos del suero pueden impedir en los monos *cynomolgus* la parálisis provocada por la simple ingestión de virus. Se ignora si los anticuerpos constituyen una barrera contra el paso del virus del aparato digestivo a la corriente sanguínea, o del primero a las vías neurales. Resulta interesante, sin embargo, que un nivel extremadamente bajo de anticuerpos del suero sea suficiente para obstaculizar esa penetración. Aunque el virus poliomiéltico se ha aislado en fecha tardía de la sangre de monos afectados de la enfermedad paralítica producida experimentalmente de varias maneras, su presencia en la sangre humana, a pesar de muchos intentos, ha sido descubierta en unos pocos casos solamente, y ello por diferentes grupos de investigadores.

Ward y colaboradores (47) comunicaron la presencia del virus en la sangre de una niña de nueve años, extraída seis horas después de empezar a manifestarse los síntomas de un ataque abortivo de poliomiéltis. Koprowski y colaboradores (48) informaron haber aislado el virus de la poliomiéltis del suero de un enfermo, por inoculación directa a ratón.

En fecha más reciente (1953) Horstman y McCollum (49) comunicaron haber aislado el virus de la poliomiéltis de la sangre de cuatro niños pertenecientes a la misma familia, durante una epidemia de poliomiéltis en Ohio, en 1952. Tres de los niños presentaron cuadros clínicos característicos de la poliomiéltis abortiva y el cuarto una forma asintomática. Los cuatro niños presentaban también el virus en frotos faríngeos y rectales.

Así pues, se van acumulando pruebas de que puede ocurrir viremia en la infección humana, tal como sucede en el chimpancé y en los monos *cynomolgus*.

Una posible explicación de los resultados negativos en la enfermedad humana es la de que en la infección natural la viremia transitoria se presenta temprano, durante el período de incubación, y ya cuando aparecen los síntomas clínicos resulta demasiado tarde para revelar la presencia del virus en la sangre.

Si los estudios que se están llevando a cabo demuestran que la viremia es un requisito esencial de la enfermedad parálitica en el hombre, lógicamente los bajos niveles de anticuerpos del suero, ya procedan de varias exposiciones anteriores al virus o se adquieran artificialmente, deben resultar efectivos en la prevención de la enfermedad parálitica.

Bodian (46, 50) demostró también en sus experimentos con chimpancés que niveles de anticuerpos mucho más elevados (500 veces) que los que resultaron adecuados para prevenir la parálisis, no impiden la infección por vía alimenticia, de manera que la inmunización activa pudo ser resultado de la exposición al virus de la poliomiелitis durante el período de protección pasiva. Esa inmunización pasiva-activa ha sido probada experimentalmente y se ha visto que ocurre durante las epidemias de otras enfermedades producidas por virus. Stokes y colaboradores (51) sugirieron que la globulina gamma administrada a niños que han estado expuestos al virus de la hepatitis infectiva, en lugar de prevenir la enfermedad puede modificarla de tal modo que dé por resultado una infección subclínica de inmunidad duradera. Estos autores sostienen la hipótesis de que el mecanismo de protección probablemente implica la superposición de una inmunidad activa sobre la decreciente inmunidad pasiva provocada por la inyección de globulina gamma, esto es, en casos de epidemias la continuada exposición de los individuos infectados al virus de los casos que ocurren a su alrededor, produce inmunidad activa a la enfermedad sin la ocurrencia de enfermedad clínica, y de este modo la inmunidad activa se produce simultáneamente con la disminución de la inmunidad pasiva producida por la inyección de globulina gamma.

INMUNIZACIÓN CONTRA LA POLIOMIELITIS

Como se ha manifestado al principio de este trabajo, en la actualidad el control de la poliomiелitis puede lograrse sólo por medio de la inmunización.

Como sucede en otras enfermedades por virus, tanto la inmunización pasiva como activa pueden emplearse en la profilaxis de la poliomiелitis.

La inmunización pasiva, aun cuando es un procedimiento seguro, sólo proporciona protección temporal y debe repetirse varias veces en épocas de epidemia. El efecto de la inmunización activa es más duradero, pero el procedimiento encierra algún peligro.

Inmunización pasiva.—Los primeros estudios experimentales demostraron que era posible proteger parcialmente a monos y ratones contra la poliomielitis mediante la transferencia pasiva de anticuerpos antes de inocular el virus. Hasta hace aproximadamente tres años obstaculizaban estos estudios experimentales en animales factores que han sido eliminados por los recientes adelantos en el conocimiento de la poliomielitis.

En 1949 Bodian (52) puso de manifiesto las propiedades neutralizantes de la globulina gamma de la Cruz Roja Americana (obtenida de mezclas de sangre donada), contra los tres tipos inmunológicos del virus y encontró que el título de anticuerpos era aproximadamente igual en los tres tipos.

Rhodes y Clark (53) demostraron de manera semejante las propiedades neutralizantes de la globulina gamma, procedente de varias fuentes, contra la cepa de virus Lansing.

Bodian (54) inoculó intramuscularmente monos *rhesus* con cada uno de tres tipos de virus, administrándoles inmediatamente después globulina gamma en dosis de 2 cc por kg de peso. Se observó protección significativa. Esta dosis de globulina gamma proporcionó protección, por lo menos parcial, cuando se administró desde tres semanas antes a tres días después de la infección con el virus (tipo León). Observó también que, a pesar de no haber logrado una producción activa de anticuerpos después de la inyección por vía intramuscular, de una mezcla neutralizada de virus activo y globulina gamma, la última no impedía el desarrollo de anticuerpos cuando se administraba en un sitio distinto del de la inoculación periférica del virus.

Hammon, Cheever y Sather (55), al efectuar experimentos con ratones lactantes, a los que inyectaron por vía intraperitoneal virus de poliomielitis adaptado al ratón, descubrieron que pequeñas dosis de globulina gamma protegían contra la inoculación intracerebral del virus. Pudo notarse que el empleo de cantidades tan pequeñas como 0.05 cc por libra de peso, de globulina de suero murino, proporciona una protección significativa, que resulta casi completa si se emplea 0.1 cc por libra de peso. Esas dosis no impidieron el desarrollo de inmunidad activa.

Adams y colaboradores (56) emplearon globulina gamma para tratar de modificar e impedir la poliomielitis experimental en monos *cynomolgus* previamente amigdalectomizados. Los resultados de sus experimentos revelaron que 1 ó 2 cc de globulina humana, por libra de peso del cuerpo, inyectada intramuscularmente, no modifican ni impiden la poliomielitis parálitica en los monos *cynomolgus* que recibieron el virus de la poliomielitis por vía oral.

Se han publicado muy pocos experimentos sobre la inmunización pasiva del hombre. La mayoría de ellos se han realizado con sangre íntegra de adultos humanos. En todas las pruebas sorprendió a los

investigadores la efectividad de la medida empleada, pero no es posible efectuar una evaluación estadística satisfactoria de ninguna de ellas.

En la epidemia de poliomiélitis ocurrida en 1948 en los condados de Houston y Harris (Texas, E. U. A.), más del 50% de los pediatras emplearon la globulina gamma en cantidades variadas para tratar de impedir la enfermedad en los posibles contactos. Bloxsonn (57), utilizando cuestionarios, resumió las observaciones de dichos pediatras. Desgraciadamente, este estudio no fué controlado de manera adecuada, pues fué imposible determinar la incidencia en el grupo testigo ni establecer conclusiones de valor.

Estos y otros estudios han destacado la necesidad de efectuar pruebas epidemiológicas en gran escala.

En 1949, Hammon (58) declaró que, "a la luz de los datos de que ahora se dispone y mientras se logra la producción de una vacuna segura, efectiva y no demasiado costosa para la inmunización activa, parece estar indicado un experimento para determinar la eficacia de la globulina gamma."

Este estudio, el experimento más extenso con seres humanos que se conoce en medicina, se realizó en 1951-1952 en los Estados de Utah, Texas, Iowa y Nebraska, durante epidemias de poliomiélitis.

El objeto principal de este estudio era:

- (1) Determinar si la globulina gamma protege contra las manifestaciones paráliticas de la poliomiélitis, administrada en dosis razonables antes de que se manifieste la enfermedad.
- (2) Determinar, en caso de que proporcione protección, la duración de ésta con la dosis escogida para el experimento.
- (3) Determinar si la globulina gamma permite la aparición de formas clínicas sin manifestaciones aparentes o leves no paráliticas y el subsiguiente desarrollo de inmunidad activa.

Los resultados de esta prueba fueron publicados recientemente por Hammon y colaboradores (59-62). De casi 55,000 niños cuya edad variaba de 1 a 11 años, la mitad recibió una inyección intramuscular de globulina gamma, y el resto una solución de gelatina. Las soluciones parecían exactamente iguales y se tomaron rigurosas precauciones a fin de impedir que ninguna de las personas interesadas en la prueba conociera, hasta después que se hubieran realizado todas las evaluaciones, cuáles eran los niños que habían recibido globulina gamma. En las pruebas se utilizó globulina gamma de la Cruz Roja Americana, obtenida de la mezcla de millares de donaciones de sangre procedentes de diferentes zonas geográficas de los Estados Unidos, por haberse encontrado que este material contenía grandes cantidades de anticuerpos neutralizantes en proporción aproximadamente igual contra los tres tipos de poliomiélitis.

Durante el período subsiguiente de 14 semanas se observaron 73 casos de poliomiélitis parálitica entre el grupo testigo, y sólo 31 casos entre los

que recibieron la globulina gamma. Esta diferencia tiene gran importancia estadística.

Durante la primera semana siguiente a la inyección de globulina gamma no se observó disminución importante en el número de casos entre el grupo que recibía globulina gamma, pero se modificó claramente la gravedad de la enfermedad. De la segunda a la quinta semanas se observó una protección elevada, pero no completa. La protección máxima se obtuvo durante este período. De la sexta a la octava semanas después de la inyección la protección pareció decrecer y a partir de la octava semana no se observó protección alguna.

La evaluación final de esta prueba se obtendrá sólo después de cuidadosos análisis estadísticos y de laboratorio, con el fin de determinar el título de anticuerpos necesario para lograr un estado de inmunidad, y el efecto de la globulina gamma en la prevención de las infecciones inaparentes que a su vez afectarían la capacidad del enfermo para desarrollar una protección activa y duradera contra futuras exposiciones a la enfermedad.

Durante el estudio no se observaron pruebas que indicaran que la inyección de gelatina durante una epidemia de poliomiелitis localiza la parálisis o aumenta la incidencia de la forma parálitica.

La dosis empleada, aproximadamente 0.3 cc por kg de peso, fué administrada intramuscularmente y proporcionó protección durante un lapso de cinco a ocho semanas. Doblando la dosis la duración de la protección se prolongaría sólo unas tres semanas. En caso de necesitarse una protección más prolongada, resultaría más económico, por lo tanto, administrar la misma dosis después de unas cinco semanas, proporcionando así protección por un período total de 10 a 13 semanas. Si se trata de una exposición por un período de sólo pocos días, podría resultar efectiva una dosis de globulina gamma semejante a la que se administra para prevenir el sarampión. Rara vez, sin embargo, se reconoce esa exposición en el caso de la poliomiелitis, de manera que parece indicada la administración de una dosis que proporcione un período de protección más prolongado.

La globulina gamma, aun en dosis mucho mayores, no afecta la evolución de la enfermedad si ya se han manifestado los síntomas, aun cuando se administre en la fase preparalítica (63). Por lo tanto, no debe malgastarse este escaso material administrándolo a niños ya enfermos. Hammon y otros insisten en que la globulina gamma debe administrarse por vía intramuscular y jamás intravenosamente, y que para cada niño debe utilizarse una jeringuilla y aguja convenientemente esterilizadas al calor.

Gutiérrez Villegas (64) y otros presentaron recientemente los resultados de los primeros experimentos de inmunización pasiva contra la poliomiелitis realizados en México. Durante una epidemia de polio-

mielitis en Colima, Col. (unos 25,000 habitantes), 1,600 niños de 6 meses a 5 años de edad recibieron 21 mg de globulina gamma por kg de peso. El grupo inyectado representaba el 43 % del total de ese grupo de edades en la población; el otro 57 % sirvió como grupo testigo. Desgraciadamente no fué posible establecer conclusiones válidas, puesto que en ninguno de los dos grupos se presentaron más casos después de la inyección de globulina gamma. Sin embargo, los autores consideran que los resultados son alentadores.

Hammon y colaboradores reconocen que la globulina gamma no es una panacea para la prevención de la poliomiélitis parálitica.

La inyección colectiva de dosis profilácticas de globulina gamma a intervalos no mayores de varias semanas, durante las estaciones en que prevalece la enfermedad, representaría un esfuerzo excesivo para la administración, el personal clínico y las existencias de globulina gamma.

Solamente el costo de elaboración de la globulina necesaria para proteger contra la enfermedad parálitica quizás a una o dos personas por millar de las que reciben la inyección, asciende a una suma desconcertante. En este experimento se gastaron más de \$4,500 en globulina gamma por cada caso en que se previno la poliomiélitis parálitica.

La dosis por niño de 6 a 7 años de edad, de peso promedio (23 kg), es de 7 cc, o sea casi la cantidad obtenida de 500 cc de sangre. Resulta esencial mantener un contralor riguroso del material a fin de obtener el mayor beneficio de su uso en las epidemias de poliomiélitis, puesto que es imposible producir suficiente globulina gamma para administrarla a todos los niños y adolescentes comprendidos en los grupos de edades más susceptibles a la enfermedad. (Por ejemplo, mientras en los Estados Unidos la cantidad total de que ahora se dispone para uso de la población civil se aproxima a un millón de dosis medias, existen unos 46,000,000 de personas comprendidas en el grupo de edades que requieren protección).

Debido a la escasez del producto, en los Estados Unidos se ha encargado a la Oficina de Movilización de Defensa (ODM) la administración de las existencias de globulina gamma, cuya demanda se cree que excederá considerablemente de la cantidad disponible. Un comité del Consejo Nacional de Investigaciones asesora a la ODM con respecto a las asignaciones y usos recomendados. Se ha encargado al Servicio de Sanidad Pública de los Estados Unidos de la distribución de la globulina gamma de acuerdo con las normas establecidas por la ODM, pero el funcionario estatal de sanidad es el responsable de la distribución de la globulina gamma que le haya sido asignada por el Servicio de Sanidad Pública. El médico particular puede solicitar la globulina gamma del departamento local de sanidad o de otra autoridad sanitaria.

La División de Servicios Médicos del Consejo Nacional de Investigaciones (65) ha recomendado cuatro métodos optativos para el uso de

la globulina gamma en la profilaxis de la poliomielitis. Esas recomendaciones figuran en el "Plan para la Distribución de Globulina Gamma" publicado por la Oficina de Movilización de Defensa (66). La elección del método o combinación de métodos a emplear variará de acuerdo con la incidencia de la enfermedad y con otros factores de la zona local.

De acuerdo con esas recomendaciones, la globulina gamma puede emplearse en (a) campañas colectivas, (b) en contactos domésticos de casos diagnosticados clínicamente, (c) en personas que hayan estado en contacto íntimo con casos diagnosticados clínicamente, y (d) en contactos domésticos de casos sospechosos.

La profilaxis colectiva de los individuos comprendidos en los grupos de edades que se encuentran en mayor peligro, está indicada solamente en los casos en que la incidencia de la enfermedad es excepcionalmente elevada y la epidemia se presenta bruscamente. La efectividad de la profilaxis colectiva guarda proporción con la incidencia de la enfermedad en los grupos de edad escogidos durante la primera a la quinta semanas siguientes a la inyección de globulina gamma. Este método es de gran eficacia cuando se aplica unas tres semanas antes de que alcance su acmé una epidemia inusitadamente intensa. No se recomienda para colectividades cuya población exceda de 100,000 o no llegue a 15,000 puesto que en el primer caso pocas veces se alcanzarán promedios que justifiquen la profilaxis colectiva y en el segundo no es probable que ocurra el número suficiente de casos para que resulte beneficioso este tipo de profilaxis.

De acuerdo con el segundo método se debe dar prioridad a la profilaxis de los contactos familiares, por cuanto los miembros de una familia en que ocurre un caso están expuestos a un riesgo mucho mayor que los demás individuos de la colectividad. Este método se recomienda en zonas de baja o moderada incidencia. En este plan se recomienda la administración de globulina gamma a los contactos domésticos de 30 años de edad o menos y a las embarazadas de cualquier edad.

El tercer método, o sea el tratamiento de los contactos íntimos de casos diagnosticados clínicamente, que representa una extensión del plan de profilaxis doméstica, es de mayor ventaja en las colectividades rurales y en las suburbanas en las que es limitado el número de contactos íntimos de un individuo.

El cuarto método, el tratamiento de los contactos domésticos de casos sospechosos, que puede considerarse una forma de selección de profilaxis colectiva, se aconseja únicamente en situaciones de epidemias intensas. Puede resultar de especial valor en las zonas escasamente pobladas en que los casos esporádicos conducen a promedios de incidencia extremadamente elevados, pero que no resultan adecuadas para la profilaxis colectiva.

Las asignaciones básicas a los estados serán establecidas por medio de una fórmula que consiste en multiplicar 60 cc (cantidad media necesaria para la profilaxis de los contactos domésticos de casos diagnosticados

clínicamente) por la suma promedio de los casos notificados durante un período de cinco años (1947-51). Las asignaciones adicionales se basarán en el múltiplo de 60 cc que corresponda al número de casos en exceso del promedio normal. Aproximadamente el 57 % de la existencia total de globulina gamma disponible para inoculaciones en casos de poliomiélitis se distribuirá a los departamentos estatales de sanidad con arreglo a esta fórmula. Un 33 % de la existencia total quedará disponible para la profilaxis colectiva y el 10 % restante se asignará a situaciones imprevistas.

Cierta proporción de la globulina gamma disponible será destinada a la prevención del sarampión y de la hepatitis infecciosa.

El Servicio de Sanidad Pública de los Estados Unidos emprendió recientemente un programa cooperativo de investigación, con carácter nacional, para evaluar la eficacia de la globulina gamma en la lucha contra la poliomiélitis. Patrocinan el programa el Departamento de Sanidad Pública en estrecha colaboración con la Asociación de Funcionarios Sanitarios Estatales y Territoriales, la Asociación Americana de Fisioterapia y la Escuela de Psiquiatría D. T. Watson, afiliada a la Escuela de Medicina de la Universidad de Pittsburgh. Un comité asesor compuesto de 17 destacadas autoridades en poliomiélitis preparó los planes de investigación y revisará sus progresos. En el Centro de Enfermedades Transmisibles se ha establecido un Centro Nacional de Evaluación de la Globulina Gamma, encargado de coordinar el programa.

Además del problema de la escasez de existencias y elevado costo, el uso de la globulina gamma presenta otros muchos inconvenientes y desventajas señalados por Hammon y colaboradores. Mencionaremos entre ellos la breve duración de la protección pasiva; la necesidad de inyectarla de nuevo cada vez que prevalece la poliomiélitis en la localidad; la incapacidad de determinar el momento óptimo para el empleo de la globulina gamma; el hecho de que no puede distinguirse a los niños susceptibles a la poliomiélitis de los niños inmunes; la incidencia sumamente baja de la poliomiélitis parálitica; y el hecho de que la protección no siempre es absoluta y que pueden darse casos de hipersensibilidad.

Como declaran Hammon y colaboradores, en cualquier enfermedad con menores repercusiones emotivas que la poliomiélitis, todas estas consideraciones probablemente restringirían o hasta prohibirían el uso de la globulina gamma excepto en casos muy especiales. En la poliomiélitis, sin embargo, la abrumadora demanda del público obligará a su empleo.

Inmunización activa.—La inmunización pasiva jamás ha resultado satisfactoria para el control de las enfermedades transmisibles y seguramente no será el método de elección en la poliomiélitis.

La inmunización activa parecer ser una forma promisoras de controlar la poliomiélitis. El hecho de ser la poliomiélitis casi exclusivamente una enfermedad de niños, excepto en poblaciones no expuestas anteriormente a la enfermedad, sugiere que los ataques clínicos o subclínicos pueden proporcionar inmunidad duradera. Confirman esta teoría recientes estudios (67) que demuestran que los anticuerpos neutralizantes del tipo Lansing, adquiridos naturalmente, persisten en la corriente sanguínea durante un largo período de tiempo y que los segundos ataques de poliomiélitis se deben a la reinfección con un virus de tipo antigénico diferente al que produjo el primer ataque (11).

En los animales de experimentación se ha demostrado que la presencia y nivel de anticuerpos circulantes guarda relación directa con la inmunidad al virus de la poliomiélitis, y probablemente ocurre lo mismo en el hombre.

El problema de la inmunización activa contra la poliomiélitis puede abordarse de dos maneras diferentes: inmunización con virus vivo atenuado e inmunización con vacunas inactivadas. Teóricamente, las vacunas vivas deben otorgar una sólida inmunidad de larga duración. Las vacunas preparadas con virus muerto o inactivado, teóricamente no provocarán una inmunidad tan efectiva o duradera, pero en cambio son más seguras.

Se ha demostrado ahora, de modo indudable, que los monos y las ratas alodóneras adquieren resistencia a la infección después de la administración de vacunas. Morgan (68) vacunó monos por medio de repetidas inyecciones intramusculares de dosis subletales de virus activo. La vacunación produjo una rápida elevación de anticuerpos en el término de dos a cuatro semanas. Al completar la serie de inyecciones, después de unas 6 semanas, se les inyectó virus vivo por vía cerebral. Se observó que prácticamente todos los animales resistían la exposición si el contenido de anticuerpos en la corriente sanguínea era suficientemente elevado.

Pueden inmunizarse los monos mediante una serie de inoculaciones de virus inactivado con formol, pero la resistencia es mucho menor que en los animales que han recibido virus vivo (69).

Salk y otros (70) obtuvieron resultados alentadores en monos empleando vacunas preparadas con cultivos de tejidos que contenían virus atenuados y muertos administradas conjuntamente con coadyuvantes.

Durante 20 años se ha tratado de llevar a cabo un programa de vacunación en el hombre. Fracasó la primera tentativa de inmunizar al hombre con vacunas preparadas a base de tejido nervioso de mono tratado con formalina o ricinoleato (71, 72). Desgraciadamente se produjeron algunos casos de parálisis después de la administración de esas vacunas (73) y se suspendió su uso.

Durante los años siguientes, tan convencidos estaban los investigadores en este campo del estricto neurotropismo del virus, que parecía existir

poca justificación teórica para el uso de las vacunas. Sin embargo, como consecuencia de recientes desenvolvimientos en la investigación de la poliomiélitis se han realizado con éxito nuevos ensayos para inmunizar a seres humanos contra ella.

En fecha reciente Howe (74) dió cuenta del empleo en niños de una vacuna poliomiélfica inactivada. Esta se preparó partiendo de una mezcla de material procedente de la médula espinal de monos *rhesus* afectados de poliomiélitis parálitica producida por los tres prototipos de virus: Lansing, Brunilda y León. Se inactivó el virus con formalina y la vacuna no produjo reacciones inconvenientes en ninguno de los seis niños vacunados. Se descubrieron importantes niveles de anticuerpos contra los tres tipos de virus, y en la mayoría de los casos estos niveles persistieron por un período que excedió el de seis meses de observación. Cada niño recibió 3.5 cc de globulina gamma humana seguida de 3 cc de vacuna. Howe señaló, sin embargo, que quizás sea necesario realizar numerosas modificaciones en la vacuna a fin de aumentar su efectividad y eliminar el riesgo de la encéfalomiélitis alérgica. Además del riesgo producido por la inyección del tejido nervioso, esta vacuna presenta la desventaja de su escasez, pues es muy pequeña la cantidad de vacuna que puede obtenerse de un mono.

El peligro descrito (encéfalomiélitis alérgica) puede evitarse cultivando el virus en tejido no neural. Explotando el descubrimiento de Ender, Salk y colaboradores (75) han estado trabajando durante más de un año en la preparación de una vacuna que parece ofrecer posibilidades de éxito. Los resultados preliminares de los estudios realizados en sujetos humanos inoculados con esa vacuna, fueron notificados recientemente. Para la preparación de la vacuna se cultivaron *in vitro* virus poliomiélficos de los tres tipos inmunológicos en un medio de riñones y testículos de monos. Se prefirieron los tejidos de los monos a los humanos por ser de más fácil obtención y porque el material humano puede transmitir el virus de la hepatitis sérica. El virus cultivado en esos medios fué inactivado mediante cuidadoso tratamiento con formaldehído, demostrando no ser infectivo en inoculación intracerebral en monos. Se administraron esas vacunas a 161 personas empleando dos técnicas. En una serie se inoculó vacuna en solución acuosa por vía intradérmica. En una segunda serie se administró la vacuna por vía intramuscular suspendida en una emulsión de agua en aceite que ejerce un efecto coadyuvante. Se midieron los resultados comparando el nivel de anticuerpos del suero tomado antes y después de la vacunación. Poco después de su introducción, la vacuna provocó la formación de anticuerpos contra los tres tipos antigénicos de virus. Los anticuerpos así producidos persistieron, sin disminuir, durante el período más prolongado estudiado hasta ahora, es decir, cuatro meses y medio después de comenzar el experimento. Al parecer la vacuna mezclada con el coadyuvante es,

en algunos casos, un antígeno mejor que la vacuna acuosa. La información a nuestro alcance hasta la fecha sugiere la posibilidad de obtener, usando material no infeccioso, el mismo efecto inmunológico producido por la infección natural.

En la actualidad es difícil efectuar una evaluación completa de esos resultados, porque los experimentos no estaban aun terminados al redactarse este informe. Los autores declararon que "aunque los resultados obtenidos en estos estudios pueden considerarse alentadores, no deben tomarse como indicación de que se dispone de una vacuna práctica."

Es necesario resolver numerosos problemas antes de que contemos con una vacuna que pueda aplicarse en gran escala. Primero, no abunda el material de cultivo; segundo, llevará largo tiempo determinar la dosis más conveniente; tercero, la preparación de cada lote de vacuna exige mucho tiempo, ya que, naturalmente, es necesario someterla a la más rigurosa prueba antes de permitir su empleo general; cuarto, sería necesario determinar la duración de la inmunidad. Por fin, será necesario establecer la eficacia de las sustancias neutralizantes del virus producidas en la sangre por la vacunación contra las parálisis ocasionadas por los diferentes tipos inmunológicos de los virus de poliomiélitis en condiciones ordinarias.

Salk y colaboradores declaran que "se están haciendo todos los esfuerzos posibles para obtener los conocimientos que permitan la aplicación de esos estudios en un número mayor de individuos de grupos especialmente escogidos." Es posible que en fecha próxima se realicen pruebas en gran escala con esta vacuna. Debido a la baja incidencia de la poliomiélitis parálitica esas pruebas requerirán un vasto experimento en seres humanos. Basándose en una tasa epidémica prevista, Gilliam y Onstott (76) consideran que se necesitarían por lo menos 15,000 niños para realizar una adecuada prueba de esta clase.

Recientemente se han concebido grandes esperanzas en relación con la inmunización activa contra la poliomiélitis mediante el uso de vacunas de virus vivo y atenuado. Uno de los primeros pasos en este sentido consiste en la selección de cepas de virus que no produzcan parálisis, pero que conserven su antigenicidad. Debido al hecho de que las cepas conocidas del virus de la poliomiélitis son antigénicamente distintas, será necesario buscar bien una cepa que inmunice contra los tres tipos o bien tres mutantes inocuos distintos.

En ausencia de cepas naturales avirulentas hoy se trata de obtener la atenuación de las cepas de virus en el laboratorio, como se ha hecho con tanto éxito en el caso de la viruela y la fiebre amarilla.

El éxito del cultivo de los virus de la poliomiélitis en tejidos logrado por Enders y colaboradores, ha alentado considerablemente la búsqueda de variantes atenuadas. Tomando como base la analogía con otras en-

fermedades causadas por virus, tal vez resulte posible seleccionar de este modo variantes del virus de la poliomiélitis que tengan poca virulencia para las células nerviosas.

Cox y sus asociados (77, 78) notificaron la propagación de la cepa tipo Lansing MEF 1 del virus de la poliomiélitis en el embrión del pollo en desarrollo después de haber logrado su adaptación a los cricetos lactantes.

La adaptación al embrión de pollo del virus de la poliomiélitis tipo Lansing, da nuevas esperanzas tanto en el campo del diagnóstico como en el del control de la enfermedad. Las pruebas realizadas en monos indican de modo indudable que el virus propagado en embrión de pollo pierde en gran medida su virulencia para los primates. Los autores descubrieron la existencia de una cierta superposición antigénica entre el tipo Lansing y los tipos Brunilda y León, y consideran que esto permite esperar que la inmunidad producida por un tipo de virus puede también producir una inmunidad básica adecuada contra cepas heterotípicas. Podrían así vencerse algunas de las dificultades que presentan las enfermedades ocasionadas por una pluralidad de cepas.

Si el método de emplear embrión de pollo para la propagación del virus de la poliomiélitis (MEF 1) puede extenderse a cepas de otro tipo, esto podría proporcionar un medio económico y abundante para el cultivo del virus, sin los inconvenientes del virus cultivado en tejidos nerviosos u otros tejidos.

Según Cox y colaboradores, la administración por vía oral de un virus vivo atenuado ofrece el método más apropiado de profilaxis contra la poliomiélitis.

Koprowski, Jervis y Norton (79) fueron los primeros en intentar la inmunización activa de seres humanos con virus de poliomiélitis vivos y atenuados. Administraron la cepa tipo Lansing (TN) adaptada al mono, a voluntarios que después fueron estudiados clínica y serológicamente y cuyas heces se examinaron en busca del virus.

En la mayoría de los sujetos (12 de cada 15) se pudo aislar el virus en las heces aun después de transcurridos cuatro días de la primera ingestión, lo que indica que se había creado un estado de portador activo de acuerdo con el criterio de Howe y otros (80). Se observaron anticuerpos específicos en altas concentraciones en la sangre de los 15 voluntarios anteriormente no inmunes. En ningún caso se observó algún síntoma de enfermedad. A los doce voluntarios en cuyas heces se aisló el virus, se les administró nuevamente virus en una o dos ocasiones en un período de tiempo comprendido entre uno y cuatro meses de la administración inicial. De éstos, 10 no excretaron virus después de la segunda administración ni mostraron aumento importante en el nivel de anticuerpos en la sangre. En los otros dos individuos se restableció el estado de portador activo en dos y tres ocasiones, respectivamente, después de la administración, acompañándose en algunos casos de un aumento en el nivel de

anticuerpos. Sin embargo, estos individuos no se convirtieron en portadores cuando se administró de nuevo el virus seis o siete semanas más tarde. No se investigó la presencia de virus en la corriente sanguínea de esos voluntarios. Esta información indica que la presencia de anticuerpos neutralizantes en la circulación no excluye necesariamente el estado de portador con virus homólogo, lo que demuestra que un individuo inmunizado puede hospedar el virus en las heces sin experimentar los síntomas de la enfermedad. Puede deducirse de este experimento que la inmunidad contra la poliomielitis, aunque probablemente efectiva contra la forma paralítica, no disminuye la importancia epidemiológica de los portadores.

Los resultados obtenidos en este primer ensayo han sido confirmados y hasta cierto punto ampliados por otro experimento recientemente publicado por Koprowski y colaboradores (81). En este segundo experimento se administró en los alimentos un mismo tipo de virus a 61 seres humanos (niños asilados en una institución estatal de deficientes mentales). Cada dosis consistió en 5 cc de una suspensión al 20 % de cerebro y médula espinal de rata algodónera infectada con cepa TN, diluída en 2 oz. de leche achocolatada, para niños. Como en el experimento anterior, ninguno de los 61 niños mostró señales o síntomas de enfermedad que pudiera atribuirse a la infección del virus. En 29 individuos se aisló el virus de las heces entre el quinto y el vigésimo día después de la ingestión. En la mayoría de los casos se observó aumento de los anticuerpos en la sangre. No se observó viremia en ninguno de los 61 niños. Los autores destacan la importancia de este hecho en vista de la teoría de Bodian, según la cual la ausencia del virus en la sangre excluye el desarrollo de la parálisis.

Las observaciones de Koprowski y colaboradores son de primordial importancia, pero como señalan los autores, "este trabajo debe ser considerado como el primer paso en el intento de aplicar a seres humanos los resultados obtenidos en el laboratorio".

Blanc y Martin (82, 83) comunicaron recientemente los resultados de las primeras pruebas con una vacuna preparada con virus vivo atenuado de poliomielitis. El virus adaptado al conejo (84) no es patógeno para los monos ni el hombre cuando es inoculado por vía oral o parenteral. El virus se multiplica en el aparato digestivo (puede encontrarse en las heces aún después de 150 días de su introducción en el huésped), y puede descubrirse su presencia en la sangre 12 días después de la inoculación. De junio de 1948 a marzo de 1953 se vacunaron unos 7,000 individuos de varias edades y con contadas excepciones experimentaron efectos perjudiciales.

La vacuna se prepara con una emulsión en dextrosa isotónica de los órganos (sangre, hígado, bazo, cerebro, médula espinal) de conejos infectados. La dosis individual es de 10 cc (contiene aproximadamente 1

gm de órganos). Se está investigando la determinación de los niveles de anticuerpos en el suero producidos por esta vacuna, y los investigadores franceses informarán más tarde sus resultados. En vista de la ausencia de casos de poliomiélitis en ambos grupos, vacunados y no vacunados (testigos), después de la administración de la vacuna, no fué posible establecer conclusiones sobre su efecto protector. Los autores sugieren que se realice una prueba bien controlada a fin de determinar el valor de esta nueva vacuna.

En la actualidad no es posible establecer el valor de esta vacuna. Los autores no informan sobre el tipo y cepas de virus empleados en sus estudios. Tampoco se suministra información en cuanto a la capacidad de esta vacuna para inducir la producción de anticuerpos contra los virus de la poliomiélitis. Finalmente, no se realizaron estudios controlados que permitan establecer conclusiones válidas sobre la eficacia de la vacuna. La inmunización humana con virus vivo será impracticable hasta que no se cuente con una variante de probada estabilidad del tipo Brunilda (al igual que acontece con la variante 17 D de la fiebre amarilla) y que tenga además, de ser posible, un amplio mosaico antigénico, pues de lo contrario será preciso incluir los tipos Lansing y León en la vacuna. Dado que sería exceso de optimismo esperar que aparezca una variante natural con amplias propiedades antigénicas, no se debe ahorrar esfuerzo que tienda a obtener las variantes atenuadas del virus en el laboratorio.

Algunas de las desventajas anotadas en relación con la inmunización pasiva con globulina gamma son aplicables igualmente a la inmunización activa. Las vacunas, sin embargo, tienen como ventaja principal una protección más prolongada.

Será necesario practicar la vacunación en gran escala para obtener un efecto observable en una enfermedad de morbilidad tan baja como la poliomiélitis. Sobre la base de un estudio de la poliomiélitis durante 20 años en cuatro estados del nordeste de Estados Unidos (Connecticut, Massachusetts, New Jersey y New York), Hammon (57) ha señalado que si se fuera a proporcionar una vacunación anual, sería necesario inmunizar a 11,000 niños para impedir la ocurrencia media anual de un caso de parálisis permanente o de muerte, esfuerzo mucho mayor que el que se necesita para inmunizar contra cualquier otra enfermedad. Este cálculo se basa en las estadísticas de esos estados y en los grupos de edad (0-9), considerados como de más elevada incidencia. La inclusión de niños mayores de 9 años de edad y la extensión a otros estados donde la incidencia es baja, aumentaría esta proporción en bastante más de 1 por 11,000 y hasta 1 por 50,000 en muchos casos.

Hasta que se obtenga atenuación de alguna cepa del virus de la poliomiélitis, deberá emplearse virus inactivado o muerto, lo que hará necesaria la repetición de las inyecciones posiblemente todos los años.

Puesto que la elaboración de los anticuerpos por el organismo después de la vacunación requiere tiempo, la aplicación de la vacuna debe

anticiparse al brote, debiendo hacerse anualmente en primavera, antes de que el brote aparezca.

Toda vez que la incidencia de la poliomiелitis paralítica fatal es en realidad más bien baja, cualquier método de inmunización activa debe ser sumamente seguro para que los padres acepten la vacunación de sus hijos.

Para terminar, debe manifestarse que existen excelentes razones que permiten esperar que dentro de pocos años se dispondrá de vacunas prácticas. Hasta entonces, sin embargo, será necesario vencer numerosas dificultades técnicas. El adelanto en los estudios de la poliomiелitis durante los últimos años indica que no nos hallamos muy lejos de la meta.

REFERENCIAS

- (1) Burnet, F. M., y MacNamara, J.: Immunological difference between strains of poliomyelitis virus, *Brit. Jour. Exp. Path.*, 12:57-61, 1931.
- (2) Paul, J. R., y Trask, J. D.: Neutralization test in poliomyelitis; comparative results with four strains of virus, *Jour. Exp. Med.*, 61:447-464, 1935.
- (3) Bodian, D.; Morgan, I. M., y Howe, H. A.: Differentiation of types of poliomyelitis viruses; the grouping of fourteen strains into 3 basic immunological types, *Am. Jour. Hyg.*, 49:234-245, 1949.
- (4) Kessel, J. F., y Pait, C. F.: Differentiation of three groups of poliomyelitis virus, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 70:315-316, 1949.
- (5) The Committee on Typing of the National Foundation for Infantile Paralysis: Immunologic classification of poliomyelitis viruses. V. Discussion of results and general summary, *Am. Jour. Hyg.*, 54:268-274, 1951.
- (6) The Committee on Typing of the National Foundation for Infantile Paralysis: Immunologic classification of poliomyelitis viruses. VII. Discussion of results and general summary of the cooperative program for the typing of two hundred and thirty strains, *Am. Jour. Hyg.*, 58:74-80, 1953.
- (7) Howe, H. A.: "Poliomyelitis", chapter in *Viral and Rickettsial Infections of Man*, editado por Rivers, T. M., Philadelphia, Lippincott, 2ª ed., 1952, pp. 300-337.
- (8) Casals, J.; Olitsky, P. K., y Brown, L. V.: Immunization of mice with inactivated type 2 poliomyelitis virus against types 2 and 3 viruses, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 80:731-736, 1952.
- (9) Sabin, A. B.: Transitory appearance of type II neutralizing antibody in patient infected with type I poliomyelitis virus, *Jour. Exp. Med.*, 96:106, 1952.
- (10) Cabasso, V. J.; Stebbins, M. R.; Dutcher, R. M.; Moyer, A. W., y Cox, H. R.: Poliomyelitis. III. Propagation of MEF I strain by allantoic cavity inoculation, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 81:525-529, 1952.
- (11) Bodian, D.: Second attacks of paralytic poliomyelitis in human beings in relation to immunity, virus types and virulence, *Am. Jour. Hyg.*, 54:174-190, 1951.
- (12) Landsteiner, K.: Poliomyélite antérieure aigüe chez le singe, *Semaine Med.* 28:620, 1908.
- (13) Armstrong, C.: The experimental transmission of poliomyelitis to the eastern cotton rat, *Pub. Health Rep.*, 54:1719-1721, 1939.
- (14) Li, C. P., y Habel, K.: Adaptation of Leon strain of poliomyelitis to mice, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 78:233-238, 1951.

- (15) Li, C. P., y Schaeffer, M.: Adaptation of type I poliomyelitis virus to mice, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 82:477-481, 1953.
- (16) Levaditi, C.: Virus de la poliomyélite et culture des cellules in vitro, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 75:202-205, 1913.
- (17) Flexner, S., y Noguchi, H.: Experiments on the cultivation of the micro-organism causing epidemic poliomyelitis, *Jour. Exp. Med.*, 18:461-485, 1913.
- (18) Long, P. H.; Olitsky, P. K., y Rhoads, C. P.: Survival and multiplication of the virus of poliomyelitis in vitro, *Jour. Exp. Med.*, 52:361-377, 1930.
- (19) Gildemesiter, E.: Über die Züchtung des Poliomyelitisvirus im künstlichen Nährmedium, *Deutsche med. Wehnschr.*, 59:877-879, 1933.
- (20) Sabin, A. B., y Olitsky, P. K.: Cultivation of poliomyelitis virus in vitro in human embryonic nervous tissue, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 34:357-359, 1936.
- (21) Enders, J. F.; Weller, T. H., y Robbins, F. C.: Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues, *Science*, 109:85-87, 1949.
- (22) Weller, T. H.; Robbins, F. C., y Enders, J. F.: Cultivation of poliomyelitis virus in cultures of human foreskin and embryonic tissues, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 72:153-155, 1949.
- (23) Robbins, F. C.; Enders, J. F., y Weller, T. H.: Cytopathogenic effect of poliomyelitis viruses in vitro on human embryonic tissues, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 75:370-374, 1950.
- (24) Robbins, F. C.; Enders, J. F.; Weller, T. H., y Florentino, G. L.: Studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture. V. The direct isolation and serologic identification of virus strains in tissue culture from patients with nonparalytic and paralytic poliomyelitis, *Am. Jour. Hyg.*, 54:286-293, 1951.
- (25) Enders, J. F.: General preface to studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture, *Jour. Immunol.*, 69:639-643, 1952.
- (26) Weller, T. H.; Enders, J. F.; Robbins, F. C., y Stoddard, M. B.: Studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture. I. The propagation of poliomyelitis viruses in suspended cell cultures of various human tissues, *Jour. Immunol.*, 69:645-671, 1952.
- (27) Robbins, F. C.; Weller, T. H., y Enders, J. F.: Studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture. III. The propagation of the poliomyelitis viruses in roller-tube culture of various human tissues, *Journ. Immunol.*, 69:673-694, 1952.
- (28) Smith, W. M.; Chambers, V. C., y Evans, C. A.: Growth of neurotropic viruses in extraneural tissues. IV. Poliomyelitis virus in human testicular tissue in vitro, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 76:696-700, 1951.
- (29) Sylverton, J. T.; Scherer, W. F., y Butorac, G.: Propagation of poliomyelitis virus in cultures of monkey and human testicular tissues, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 77:23-28, 1951.
- (30) Ledinko, N.; Riordan, J. T., y Melnick, J. L.: Differences in cellular pathogenicity of two immunologically related poliomyelitis viruses as revealed in tissue culture, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 78:83-88, 1951.
- (31) Younger, J. S.; Ward, E. N., y Salk, J. E.: Studies in poliomyelitis viruses in cultures of monkey testicular tissue: I. Propagation of virus in roller tube, *Am. Jour. Hyg.*, 55:291-300, 1952.
- (32) Brown, G. C.: Influence of chemicals on propagation of poliomyelitis virus in tissue culture, *Fed. Proc.*, 11:463, 1952.
- (33) Salk, J. E.; Lewis, L. J.; Bennett, B. L., y Youngner, J. S.: Immunization of monkeys with poliomyelitis viruses grown in cultures of monkey testicular tissue, *Fed. Proc.*, 11:480, 1952.

- (34) Svedmyr, A.; Enders, J. F., y Halloway, A.: Complement fixation with Brunhilde and Lansing poliomyelitis viruses propagated in tissue culture, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 79:296-300, 1952.
- (35) Sabin, A. B.: The olfactory bulbs in human poliomyelitis, *Am. Jour. Dis. Child.*, 60:1313-1318, 1940.
- (36) Howe, H. A., y Bodian D.: Neuropathological evidence on the portal of entry problem in human poliomyelitis, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 69:183-215, 1941.
- (37) Sabin, A. B., y Ward, R.: The natural history of human poliomyelitis. I. Distribution of virus in nervous and non-nervous tissues, *Jour. Exp. Med.*, 73:771-793, 1941.
- (38) German, W. J., y Trask, J. D.: Cutaneous infectivity in experimental poliomyelitis. Increased susceptibility after neurosurgical procedures, *Jour. Exp. Med.*, 68:125-145, 1938.
- (39) Trask, J. D., y Paul, J. R.: Intracutaneous inoculation of poliomyelitis virus in monkeys and its detection in their stools, *Ann. Int. Med.*, 17:795-978, 1942.
- (40) Melnick, J. L.: The recovery of poliomyelitis virus from the stools of experimentally infected monkeys and chimpanzees, *Jour. Immunol.*, 53:277-290, 1946.
- (41) Hammon, W. McD., y Roberts, E. C.: Serum neutralizing antibodies to the infecting strain of virus in poliomyelitis patients, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 69:256-258, 1948.
- (42) Steigman, A. J., y Sabin, A. B.: Antibody response of patients with poliomyelitis to virus recovered from their own alimentary tract, *Jour. Exp. Med.*, 90:349-372, 1949.
- (43) Horstmann, D. M.: Poliomyelitis virus in blood of orally infected monkeys and chimpanzees, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 79:417-419, 1952.
- (44) Bodian, D.: A reconsideration of the pathogenesis of poliomyelitis, *Am. Jour. Hyg.*, 55:414-438, 1952.
- (45) Bodian, D.: Pathogenesis of poliomyelitis, *Am. Jour. Pub. Health*, 42:1388-1402, 1952.
- (46) Bodian, D.: Experimental studies on passive immunization against poliomyelitis. II. The prophylactic effect of human gamma globulin on paralytic poliomyelitis in cynomolgus monkeys after virus feeding, *Am. Jour. Hyg.*, 56:78-79, 1952.
- (47) Ward, R.; Horstmann, D. M., y Melnick, J. L.: Isolation of poliomyelitis virus from human extra-neural sources. IV. Search for virus in the blood of patients, *Jour. Clin. Invest.*, 25:284-286, 1946.
- (48) Koprowski, H.; Norton, T. W., y MacDermott, W.: Isolation of poliomyelitis virus from human serum by direct inoculation into a laboratory mouse, *Pub. Health Rep.*, 62:1467-1476, 1947.
- (49) Horstmann, D. M., y McCollum, R.: Poliomyelitis virus in human blood during the "minor illness" and the asymptomatic infection, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 82:434-437, 1953.
- (50) Bodian, D.: Experimental studies on passive immunization against poliomyelitis. III. Passive-active immunization and pathogenesis after virus feeding in chimpanzees, *Am. Jour. Hyg.*, 58:81-100, 1953.
- (51) Stokes, J., Jr.; Farquhar, A.; Drake, M. E.; Capps, R. B.; Ward, C. S.; Mills, O., y Kitts, A. W.: Infectious hepatitis. Length of protection by immune serum globulin (gamma globulin) during epidemics, *Jour. Am. Med. Assn.*, 147:714-719, 1951.
- (52) Bodian, D.: Neutralization of three immunological types of poliomyelitis virus by human gamma globulin, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 72:259-261, 1949.

- (53) Rhodes, A. J., y Clark, E. M.: Passive immunity to poliomyelitis. II. Lansing antibody contents of human gamma globulin, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 76:379-381, 1951.
- (54) Bodian, D.: Experimental studies on passive immunization against poliomyelitis. I. Protection with human gamma globulin against intramuscular inoculation and combined passive and active immunization, *Am. Jour. Hyg.*, 54:132-143, 1951.
- (55) Hammon, W. McD.; Cheever, F. S., y Sather, G. E.: Gamma globulin passive protection tests in mice injected intraperitoneally with MEF 1 poliomyelitis virus, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 80:150-153, 1952.
- (56) Adams, J. M.; Carpenter, C. M.; French, J. D.; Pressman, J. J.; Smith, J. L., y Klein, S. J.: Experimental poliomyelitis. Use of gamma globulin in tonsillectomized monkeys, *Laryngoscope*, 61:1010-1021, 1951.
- (57) Bloxson, A.: Use of immune serum globulin (human) as prophylaxis against poliomyelitis, *Texas State Jour. Med.*, 45:458-470, 1949.
- (58) Hammon, W. McD.: Possibilities of specific prevention and treatment of poliomyelitis, *Pediatrics*, 6:695-705, 1950.
- (59) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L., y Stokes, J., Jr.: Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic agent for poliomyelitis: I. Plan of controlled field tests and results of 1951 pilot study in Utah, *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:739-749, 1952.
- (60) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L., y Stokes, J., Jr.: Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic. II. Conduct and early follow-up of 1952 Texas and Iowa-Nebraska studies, *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:756, 1952.
- (61) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L.; Wehrle, P. F.; Klimt, C. R., y Stokes, J., Jr.: Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic agent for poliomyelitis. III. Preliminary report of results based on clinical diagnosis, *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:757-760, 1952.
- (62) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L.; Wehrle, P. F., y Stokes, J., Jr.: Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic agent for poliomyelitis. IV. Final report of results based on clinical diagnosis, *Jour. Am. Med. Assn.*, 151:1272-1285, 1953.
- (63) Bahlke, A. M., y Perkins, J. E.: Treatment of paralytic poliomyelitis with gamma globulin, *Jour. Am. Med. Assn.*, 129:1146-1150, 1945.
- (64) Gutiérrez Villegas, L.; Laguna, J.; Campillo, C., y Rizo, R.: Estudios sobre la inmunización pasiva contra la poliomieltis con globulinas homólogas, *Gac. Med. Méx.*, 82:423-436, 1952.
- (65) Division of Medical Sciences of the National Research Council: The distribution and use of gamma globulin, *Pub. Health. Rep.*, 68:660-665, 1953.
- (66) Office of Defense Mobilization: Plan for the allocation of gamma globulin, *Pub. Health Rep.*, 68:666-668, 1953.
- (67) Paul, J. R., y Riordan, J. R.: Observations on serological epidemiology; antibodies to Lansing strain of poliomyelitis virus in sera from Alaskan eskimos, *Am. Jour. Hyg.*, 53:202-219, 1950.
- (68) Morgan, I. M.: Level of serum antibody associated with intracerebral immunity in monkeys vaccinated with Lansing poliomyelitis virus, *Jour. Immunol.*, 62:301-310, 1949.
- (69) Morgan, I. M.: Immunization of monkeys with formalin-inactivated poliomyelitis viruses, *Am. Jour. Hyg.*, 48:394-406, 1948.
- (70) Salk, E. J.; Lewis, L. J.; Bennett, B. L., y Youngner, J. S.: Immunization of monkeys with poliomyelitis viruses grown on culture of monkey testicular tissue, *Fed. Proc.*, 11:480, 1952.
- (71) Brodie, M., y Park, W. H.: Active immunization against poliomyelitis, *Am. Jour. Pub. Health*, 26:119-125, 1936.

- (72) Kolmer, J. A.: Vaccination against acute anterior poliomyelitis, *Am. Jour. Pub. Health*, 26:126-135, 1936.
- (73) Leake, J. P.: Poliomyelitis following vaccination against the disease, *Jour. Am. Med. Assn.*, 105:2152, 1935.
- (74) Howe, H. A.: Antibody response of chimpanzee and human beings to formalin-inactivated polyvalent poliomyelitis vaccine, *Am. Jour. Hyg.*, 56:265-286, 1952.
- (75) Salke, J. E.; Bennett, B. L.; Lewis, J. L.; Ward, E. N., y Youngner, J. S.: Studies in human subjects on active immunization against poliomyelitis. I. A preliminary report of experiments in progress, *Jour. Am. Med. Assn.*, 151:1081-1098, 1953.
- (76) Gilliam, A. G., y Onstott, R. H.: Results of field studies with the Brodie poliomyelitis vaccine, *Pub. Health Rep.*, 51:160-171, 1936.
- (77) Roca Garcia, M.; Moyer, A. W., y Cox, H. R.: Poliomyelitis. II. Propagation of MEF 1 strain of poliomyelitis virus in developing chick embryo by yolk sac inoculation, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 81:519-525, 1952.
- (78) Cabasso, V. J.; Stebbins, M. R.; Dutcher, R. M.; Moyer, A. W., y Cox, H. E.: Poliomyelitis. III. Propagation of MEF 1 strain of poliomyelitis virus in developing chick embryo by allantoic cavity inoculation, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 81:525-529, 1952.
- (79) Koprowski, H.; Jervis, G. A., y Norton, T. W.: Immune response in human volunteers upon oral administration of rodent-adapted strain of poliomyelitis virus, *Am. Jour. Hyg.*, 55:108-126, 1952.
- (80) Howe, H. A.; Bodian, D., y Morgan, I. M.: Subclinical poliomyelitis and its relation to alimentary reinfection, *Am. Jour. Hyg.*, 1950, 51:85-108.
- (81) Koprowski, H.; Jervis, G. A.; Norton, T. W., y Nelsen, D. J.: Further studies on oral administration of living poliomyelitis virus to human subjects, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 82:277-280, 1953.
- (82) Blanc, G., y Martin, L. A.: Innocuité pour l'homme du virus poliomyélique fixé au lapin. Hypothèses sur le pouvoir protecteur d'un tel virus, *Bull. Acad. Med.*, 136:655-663, 1953.
- (83) Blanc, G., y Martin, L. A.: Premiers essais de prophylaxie de la poliomyélite par virus vivant fixé au lapin. Innocuité de la méthode, *Bull. Acad. Med.*, 137:230-234, 1953.
- (84) Blanc, G., y Martin, L. A.: Recherches sur le virus poliomyélique, *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 4:19-91, 1950.