

HACIA UNA VACUNA CONTRA LA FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA¹

Julio G. Barrera Oro² y Kelly T. McKee, Jr.³

La elaboración de una vacuna contra la fiebre hemorrágica argentina, el "mal de los rastrojos" de las pampas, ha sido el sueño de los médicos y científicos que se ocupan de esta enfermedad desde su descubrimiento en los años cincuenta. Con este fin se han creado y probado varios inmunógenos muertos y vivos, pero ninguno ha resultado apto para su uso estandarizado en los seres humanos. Gracias a una iniciativa internacional reciente, se ha preparado una vacuna nueva denominada Candid No. 1 a partir de virus Junín vivo atenuado. En las pruebas realizadas hasta ahora esta vacuna ha dado resultados alentadores.

La fiebre hemorrágica argentina (FHA) es una zoonosis grave, transmitida por roedores, que se limita a las pampas fértiles del norte de la región central de la Argentina. Su agente causal, el virus Junín del grupo de los arenavirus, produce infecciones crónicas en los reservorios de la familia de roedores *Cricetidae* y se transmite al hombre a través de objetos y aerosoles contaminados por las deyecciones de estos animales. La población que corre mayor riesgo está constituida por los campesinos y habitantes del área rural (1). La enfermedad suele ser más grave en las personas de edad más avanzada y produce una mortalidad que oscila entre 5 y 30%. Aunque la FHA aparece en cualquier época del año,

la mayor parte de los casos se presentan en un período epidémico bien definido que se extiende de febrero a julio y que coincide con la cosecha anual.

La epidemiología de la FHA sugiere que se trata de una enfermedad en expansión y de incidencia fluctuante. Cuando se reconoció por primera vez en los años cincuenta, su zona endémica estaba circunscrita a una región de 16 000 km² en la provincia de Buenos Aires (1). Desde entonces se ha extendido a las tres provincias adyacentes y actualmente ocupa una zona casi ocho veces mayor que la inicial (2). La enfermedad parece destinada a seguir extendiéndose en dirección noroeste (3).

Durante los años sesenta y setenta eran frecuentes los brotes epidémicos de más de 1 000 casos al año, pero desde 1979 la incidencia anual raras veces ha superado los 400 casos (4; Maiztegui JI, datos inéditos). Uno de los motivos es que el frente de avance continuo de la enfermedad ha creado zonas "históricas" donde se vienen produciendo casos de FHA desde hace 10 años o más.

¹ Se publica en inglés en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Vol. 25, No. 2, 1991 con el título "Toward a vaccine against Argentine hemorrhagic fever" Las opiniones de los autores no reflejan necesariamente la opinión del Departamento del Ejército o del Departamento de Defensa de los Estados Unidos.

² Instituto Salk, División de Servicios Gubernamentales, Swiftwater, Pensilvania, Estados Unidos de América.

³ Instituto de Investigaciones Médicas sobre Enfermedades Infecciosas del Ejército de los Estados Unidos, División de Medicina, Fort Detrick, Frederick, Maryland, EUA. Dirección postal: Division of Medicine, United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Ft. Detrick, Frederick, MD 21701-5011, Estados Unidos de América.

CUADRO 1. Posibles vacunas contra la fiebre hemorrágica argentina elaboradas con virus inactivados

Tipo	Cepa	Experiencia en animales de laboratorio		Experiencia en seres humanos	
		Inmunógena	Protectora	Inmunógena	Protectora
Destrucción con formol	Múltiple	Sin evaluar	Sí (6)	Sin evaluar	Sin determinar (8)
	MC ₂	Sí (7)	Sí (7)	Sin evaluar	Sin evaluar
	XJ Cl 3	Sí (9)	No (9)	Sin evaluar	Sin evaluar
Inactivación por luz	XJ	Sin evaluar	Parcial (8)	Sin evaluar	Sin evaluar
	RC	Sin evaluar	Sí (18)	No (18, 61) ^a	No (61)
Subunidad	MC ₂	Sí (14)	Sí (14)	Sin evaluar	Sin evaluar

^a Casos seropositivos por administración de una dosis de refuerzo.

Aunque en estas zonas se siguen presentando casos, la incidencia anual de la enfermedad es muy inferior a la que se observa en regiones que han sido afectadas más recientemente (2). Es curioso que este fenómeno se produzca, aun cuando más de 95% de la población sigue siendo susceptible (5).

ANTECEDENTES HISTÓRICOS DE LA VACUNA

Vacunas inactivadas

La necesidad de obtener una vacuna contra la FHA fue advertida desde hace mucho tiempo. Las primeras iniciativas se basaron en preparados de cerebro de ratón inactivados con formol (6, 7) que inducían la formación de anticuerpos neutralizantes y conferían protección a ratones y cobayos contra el virus Junín virulento (cuadro 1). Entre 1959 y 1962 se inocularon más de 15 000 personas con uno de estos productos, pero su eficacia nunca se evaluó (8). Sin embargo, la necesidad de administrar de 3 a 4 dosis semanales con o sin dosis de refuerzo, así como algunas reservas acerca del sustrato del virus (es decir, el cerebro de ratón), menoscabaron seriamente la utilidad general de estas vacunas. Recientemente, se ha procurado corregir algunas de estas deficiencias, utilizando un

inmunógeno cultivado en medio celular e inactivado con formol. Con este producto se logró estimular la formación de anticuerpos neutralizantes, pero los animales vacunados que fueron expuestos a una cepa virulenta de virus Junín no fueron capaces de resistirla (9).

También se han utilizado otras técnicas para inactivar el virus Junín: exposición a colorantes fotoactivos (10, 11), radiación ultravioleta (12), calentamiento y tratamiento con acetona (13). Aunque al menos uno de estos derivados se ha administrado a seres humanos en estudios restringidos (cuadro 1), todos los productos de esta clase han mostrado una utilidad limitada. Un inmunógeno subunitario, compuesto de un extracto purificado de glucoproteína capsular G38 emulsionada en adyuvante completo de Freund, ha inducido la formación de anticuerpos neutralizantes en conejos y ha protegido a cobayos contra la infección por el virus Junín virulento (14). Aunque estas técnicas han dado algunos resultados parcialmente promisorios, se necesitan más estudios para determinar su posible utilidad en la elaboración de una vacuna para el ser humano.

Vacunas vivas

La alternativa a la inactivación del virus como método clásico de elaborar vacunas consiste en producir un inmunógeno vivo atenuado. Como indica el cuadro 2, se han obtenido y probado diversos inmunógenos procedentes de virus heterólogos y homólogos.

CUADRO 2. Posibles vacunas contra la fiebre hemorrágica argentina elaboradas con virus vivos

Tipo	Cepa	Historia de pases sucesivos ^a	Experiencia en animales de laboratorio		Experiencia en seres humanos	
			Inmunógena	Protectora	Inmunógena	Protectora
Heterólogo	Tacaribe	Cepa 11573	Sí (18-26)	Sí (18-26)	Sin evaluar	Sin evaluar
Homólogo	XJO	Co ₂ , CRL ₁₉ (43)	Sí (43, 44)	Sí (43, 44)	Sin evaluar	Sin evaluar
	CI 3 XJ	Co ₂ , CRL ₁₄ , RMRh ₄ , CH ₁ , MA-111 ₃ , CRL ₃ ^b	Sí (32)	Sí (32)	Sí (31, 34)	Posiblemente (62)
En estudio	Candid No. 1	Co ₂ CRL ₄₄ PMR _h ^c		Sí (50, 52, 53)	Sí (50, 52, 53)	Sí (56, 57)

^a Co = cobayo; CRL = cerebro de ratón lactante; RMRh = cultivo de células renales de mono rhesus; CH = cerebro de hamster; MA-111 = línea continua de células renales de conejo; PMR_h = cultivo de células pulmonares fetales del mono rhesus. Los subíndices indican el número del pase.

^b Se desconocen porciones de la historia de crecimiento en pases sucesivos; el número de pases se determinó a partir de documentos escritos proporcionados por el doctor N. Wiebenga y la referencia 31 (véase el texto).

^c JG Barrera Oro, manuscrito en preparación

Vacunas vivas heterólogas. Los virus de la familia *Arenaviridae* comprenden dos grupos serológicos: los arenavirus del Viejo Mundo (coriomeningitis linfocitaria, Lassa, Mopeia, Mobala e Ippy) y los del Nuevo Mundo (Machupo, Junín, Tacaribe, Amapari, Paraná, Latino, Tamiami, Pichinde y Flexal).

El virus Tacaribe, que es el prototipo del grupo del Nuevo Mundo (15), está estrechamente relacionado serológica y bioquímicamente con el virus Junín (16, 17). En sistemas modelo con cobayos (18–22) y primates (23–26), se ha podido comprobar repetidas veces la presencia de protección cruzada contra el virus Junín. No se ha notificado ninguna reacción adversa en animales vacunados con dosis suficientes de virus Tacaribe. En el ser humano solo se ha visto un caso de infección de este tipo, caracterizada por fiebre, cefalea y otros síntomas conducentes a la hospitalización (mención en la referencia 27). Cabe advertir, sin embargo, que esta infección fue el resultado de una exposición a preparados víricos experimentales, posiblemente de gran potencia, hecho que dificulta llegar a conclusiones generales sobre la patogenicidad del virus Tacaribe en el ser humano. No hay pruebas de que el virus produzca infecciones crónicas o persistentes en modelos mamíferos (25, revisión en la referencia 17). La inmunidad heteróloga producida por el virus Tacaribe es de larga duración (25, 28). Sobre la base de estas observaciones, se ha propuesto el virus Tacaribe para la elaboración de una vacuna heteróloga contra la FHA (17, 25). Aún falta realizar estudios en seres humanos.

Vacunas vivas homólogas. Una observación hecha fortuitamente en los Laboratorios de Virus de la Fundación Rockefeller proporcionó la clave para desarrollar una vacuna homóloga con virus vivos atenuados. Algunos investigadores advirtieron que la cepa prototipo XJ del virus Junín perdía su pato-

genicidad en el cobayo después de unos 40 ciclos de crecimiento en cerebro de ratón lactante (29), aunque inicialmente se pensó que esto obedecía a una resistencia del huésped más que a la atenuación del virus (30). Posteriormente Wiebenga, de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América, creó una reserva de virus en cerebro de hámster lactante, inoculando un pase purificado por sembrado en placa (en células renales primarias de mono rhesus), derivado del pase 14 en cerebro de ratón de la cepa XJ. Esta cepa, designada XJ clon 3 (Wiebenga N, comunicación escrita), fue posteriormente sometida a otros ciclos de crecimiento en líneas celulares continuas de tipo MA-104 y MA-111 y el producto de uno de estos ciclos (en la línea celular MA-111) más tarde se puso a crecer en un sustrato de cerebro de ratón lactante, evaluándose su posible utilidad para la elaboración de una vacuna (31).

La inoculación intraperitoneal de cobayos con la cepa XJ clon 3 sirvió para confirmar su atenuación, inmunogenicidad y capacidad de proteger a los animales contra exposición a la descarga de virus virulentos (32). Posteriormente se evaluó la inocuidad del clon en seres humanos mediante su administración a siete de los participantes en la investigación del virus Junín. Algunos voluntarios tuvieron reacciones clínicas leves y transitorias (33) y todos formaron anticuerpos neutralizantes (34).

Ante estos resultados alentadores, la XJ clon 3 se administró a otro grupo de 629 voluntarios argentinos durante el período de 1968 a 1970. En 75,6% de 213 individuos estudiados intensivamente se detectaron las siguientes reacciones clínicas: tres a 10 días después de la vacunación 44% presentaron fiebre, a menudo acompañada de astenia, cefalea, mialgias y dolor retroocular, seguida de la resolución espontánea de los síntomas en menos de tres días; 29,1% presentaron un cuadro afebril de uno a cuatro días de duración con astenia, cefalea y dolor retroocular; y 2,4% tuvieron una reacción local en el sitio de la inoculación que desapareció en menos de 48 horas. El resto de los voluntarios (24,4%) permanecieron asintomáticos

(35). De los 57 individuos a los que se les hicieron análisis de sangre, 29 (50,9%) presentaron una leve leucopenia, 5 (8,8%) un ligero déficit plaquetario y 11 (19,2%) ambas alteraciones. En los 12 restantes (21,1%) no se encontraron alteraciones de ninguna clase (31, 35). De 165 individuos que fueron examinados entre uno y tres meses después de la vacunación, 97% desarrollaron anticuerpos neutralizantes (31). No se observaron efectos secundarios a largo plazo en 267 de estos voluntarios cuando se les hizo un seguimiento entre siete y nueve años más tarde; 153 de 165 (90%) todavía tenían concentraciones detectables de anticuerpos neutralizantes contra el virus Junín (31).

Debido a la mala documentación de los ciclos de crecimiento sucesivos de la XJ clon 3 (sus pases previos de crecimiento en líneas celulares heteroploides y sustrato de cerebro de ratón) se suspendió la administración de la vacuna en 1971 (17). Sin embargo, se siguió investigando el producto y se evaluaron los derivados de nuevos ciclos de crecimiento para determinar el grado de atenuación de la cepa prototipo XJ.

Resultó evidente que, en cobayos, la XJ clon 3 era muy atenuada en comparación con las cepas naturales de virus Junín (36). A pesar de ello, en esos animales y en primates se demostró la presencia de virulencia periférica residual, neurotropismo y neurovirulencia (37-39). Además, utilizando técnicas sensibles como el cocultivo y la tinción de antígenos con inmunoperoxidasas, se logró demostrar la persistencia del virus en los tejidos de cobayo hasta tres meses después de la infección (39-41). En los órganos de primates también se detectaron antígenos hasta un año después de la infección (42).

Otra cepa atenuada de virus Junín, derivada del prototipo XJ y denominada XJO, se mantuvo en cerebro de ratón lactante únicamente, sin pasarla por ciclos de crecimiento sucesivos en líneas celulares (43).

Aunque según los informes la cepa XJO confirió protección a cobayos expuestos a la descarga de virus Junín virulento, también mostró persistencia, neurotropismo y neurovirulencia similares a los observados con la XJ clon 3 (41, 43-47).

Candid No. 1

En 1976, durante el Primer Seminario Internacional sobre Fiebres Hemorrágicas Producidas por Arenavirus (48), se celebraron discusiones fructíferas cuyo resultado fue el desarrollo de una iniciativa multinacional común para la elaboración de una vacuna adecuada contra la FHA, a partir de virus Junín vivo atenuado. La iniciativa comenzó en 1979 como obra conjunta del Instituto de Investigaciones Médicas sobre Enfermedades Infecciosas del Ejército de los Estados Unidos y el Ministerio de Salud Pública y Acción Social de la Argentina y recibió el apoyo del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo y la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Los objetivos fueron los siguientes: identificar un virus que tuviera una historia bien documentada de ciclos de crecimiento sucesivos en líneas celulares y que fuera tan atenuado, al menos, como la cepa XJ clon 3, con el fin de poder administrarlo a los seres humanos; adaptar el virus a la replicación en sustratos celulares fiables; escoger variantes atenuadas que tuvieran una virulencia residual mínima pero que fueran inmunógenas y capaces de conferir protección a los animales de laboratorio, y por último elaborar la citada vacuna experimental y someterla a prueba en voluntarios, bajo la supervisión de agencias reguladoras de los Estados Unidos y la Argentina y de la OPS.

Para desarrollar la vacuna se siguieron dos caminos simultáneamente. El primero consistió en identificar una cepa de virus Junín ya atenuada que pudiera utilizarse como virus original susceptible de nuevas modificaciones. Este método ofrecía una vía directa de obtener un virus muy atenuado cuya aceptabilidad como posible agente inoculante pudiera evaluarse por los medios adecuados. El segundo consistió en aislar una

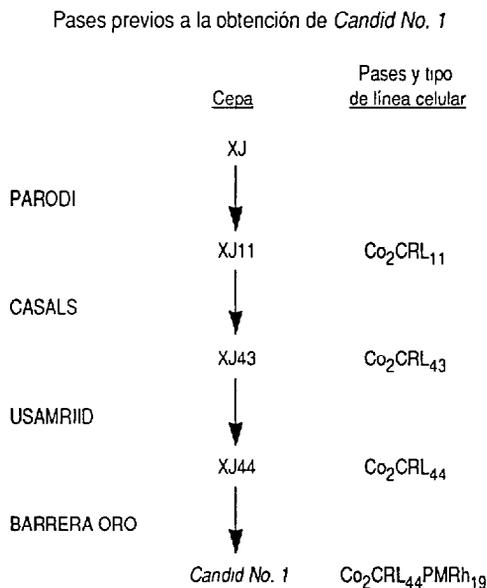
cepa nueva de virus Junín de origen natural y someterla a ciclos de crecimiento sucesivos en sustratos celulares fiables con el fin de enriquecer el número de cepas atenuadas. Este último método produjo virus cuya virulencia, aunque reducida, seguía siendo bastante alta, por lo que el método se abandonó.

Las iniciativas anteriores resultaron en el desarrollo de la vacuna *Candid No. 1*. Se usó una cepa viral procedente de un descendiente documentado (cultivado en sustratos de cobayo y de cerebro de ratón) del prototipo XJ del virus Junín, que había sido cultivado inicialmente en células diploides de mamífero certificadas y más tarde clonado (figura 1) (49; Barrera Oro JG, et al., manuscrito en preparación).

La vacuna *Candid No. 1* muestra más atenuación que la XJ clon 3 en ratones recién nacidos y cobayos (50; Barrera Oro JG, et al., manuscrito en preparación). Su neuroinvasividad y neurovirulencia en primates no humanos son mínimas e inferiores a las de la XJ clon 3 (51-53). Se han demostrado la inmunogenicidad y eficacia de *Candid No. 1* en cobayos y primates no humanos (26, 50, 52, 53). También se ha comprobado que protege a los macacos frente a una exposición heteróloga a grandes cantidades del virus Machupo virulento, pariente cercano del virus Junín y agente causal de la fiebre hemorrágica boliviana (54, 55).

La inocuidad e inmunogenicidad de *Candid No. 1* se han estudiado en más de 200 voluntarios estadounidenses y argentinos (56, 57). Hasta la fecha, no se han detectado reacciones adversas importantes como resultado de la vacunación y más de 95% de los inoculados han desarrollado anticuerpos después de la inmunización. Actualmente, en la provincia argentina de Santa Fe se efectúa un gran ensayo clínico doble ciego con placebo para estudiar la eficacia de la vacuna (Maiztegui JI, McKee KT Jr, comunicación personal).

FIGURA 1. Historia de los pases sucesivos con que se obtuvo la vacuna *Candid no. 1* elaborada con el virus Junín (Co = pase en células de cobayo; CRL = pase en células cerebrales de ratón lactante; PMRh = pase en células pulmonares de mono rhesus)



CONCLUSIONES

La historia de la vacunación contra la FHA comenzó hace más de 30 años. Desde entonces se han utilizado varios métodos clásicos de elaboración para crear una vacuna a partir de un inmunógeno inocuo y eficaz en el ser humano. La elaboración de *Candid No. 1*, la vacuna experimental más prometedora hasta el momento, se apoyó en la práctica adquirida a través de muchos años de experimentación en los laboratorios y hospitales de dos continentes. En concreto, la extensa evaluación de la cepa XJ clon 3 en modelos animales y en seres humanos proporcionó un caudal de información científica que ha permitido seguir modificando el prototipo XJ del virus Junín hasta llegar a producir la vacuna *Candid No. 1*.

Si se obtienen buenos resultados con *Candid No. 1*, será la primera vacuna que

se use ampliamente contra un arenavirus. Se cree, por consiguiente, que la experiencia obtenida a lo largo de su desarrollo podría aplicarse a otros arenavirus patógenos para el hombre, especialmente el virus Lassa. En época reciente, las investigaciones en torno al desarrollo de una vacuna para la profilaxis de la fiebre de Lassa se han concentrado en la clonación molecular y la inserción de un vector (58–61). Aunque se trata de un enfoque novedoso y muy prometedor en cuanto al desarrollo de una vacuna, aún no ha generado un producto apropiado para el ser humano. Si esta nueva tecnología no da los resultados anticipados, la experiencia adquirida durante la elaboración de la vacuna con el virus Junín será de gran valor en la planificación y ejecución de un programa clásico destinado a desarrollar una vacuna contra la fiebre de Lassa.

REFERENCIAS

1. Maiztegui JI. Clinical and epidemiological patterns of Argentine hemorrhagic fever. *Bull WHO*. 1975;52:567–575.
2. Maiztegui J, Feuillade M, Briggiler A. Progressive extension of the endemic area and changing incidence of Argentine hemorrhagic fever. *Med Microbiol Immunol*. 1986;175:149–152.
3. Mills J, Ellis B, Maiztegui J, Ksiazek T, McKee K, Childs J. Prevalence of Junin virus antigen and antibody among rodents in endemic and non-endemic areas of Argentine hemorrhagic fever. Honolulu, Hawaii: American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1989. (Abstract, 38th Annual Meeting).
4. Carballal G, Videla CM, Merani MS. Epidemiology of Argentine hemorrhagic fever. *Eur J Epidemiol*. 1988;4:259–274.
5. Weissenbacher MC, Sabattini MS, Ávila MM, et al. Junin virus activity in two rural populations of the Argentine hemorrhagic fever (AHF) endemic area. *J Med Virol*. 1983;12:273–280.
6. Pirotsky I, Martini P, Zuccarini J, et al. Virosis hemorrágica del noroeste bonaerense (endemo-epidémica, febril, exantemática y leucopénica): V, la vacuna específica y la vacunación. *Orientación Médica*. 1959;8:743–744.
7. Barrera Oro JG, Girola RA, Frugone G. Estudios inmunológicos con virus Junín: II, inmunidad adquirida por cobayos inoculados con virus inactivado por formol. *Medicina* (Buenos Aires). 1967;27:279–282.
8. Mettler N. Argentine hemorrhagic fever: current knowledge. Washington, DC: Pan American Health Organization; 1969. (PAHO Scientific Publication 183).
9. Videla C, Carballal G, Remorini P, La Torre J. Formalin inactivated Junin virus: immunogenicity and protection assays. *J Med Virol*. 1989;29:215–220.
10. Parodi AS, de Guerrero LB, Weissenbacher M. Fiebre hemorrágica argentina: vacunación con virus Junín inactivado. *Ciencia e Investigación*. 1965; 21:132–133.
11. Martínez Segovia ZM de, Arguelles G, Tokman A. Capacidad antigénica del virus Junín inactivado mediante oxidación fotodinámica. *Medicina* (Buenos Aires). 1980;40:156–160.
12. D' Aiutolo AC, Lampuri JS, Coto CE. Reactivación del virus Junín inactivado por la luz ultravioleta. *Medicina* (Buenos Aires). 1979;39:801.
13. Carballal G, Videla C, Oubiña JR, Frigerio MJ. Antígenos inactivados de virus Junín. *Medicina* (Buenos Aires). 1985;45:153–158.
14. Cresta B, Padula P, de Martínez Segovia ZM. Biological properties of Junin virus proteins: I, identification of the immunogenic glycoprotein. *Inter-virology*. 1980;13:284–288.
15. Downs WG, Anderson CR, Aitken THG, Spence L, Greenhall AH. Tacaribe virus, a new agent isolated from Artibeus bats and mosquitoes in Trinidad. *Am J Trop Med Hyg*. 1963;12:639–646.
16. Damonte EB, Mersich SE, Candurra NA, Coto CE. Cross reactivity between Junin and Tacaribe viruses as determined by neutralization test and immunoprecipitation. *Med Microbiol Immunol*. 1986;175:85–88.
17. Weissenbacher MC, Laguens RP, Coto CE. Argentine hemorrhagic fever. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1987;134:79–116.
18. Parodi AS, Coto CE. Inmunización de cobayos contra el virus Junín por inoculación del virus Tacaribe. *Medicina* (Buenos Aires). 1964;24:151–153.
19. Tauraso N, Shelokov A. Protection against Junin virus by immunization with live Tacaribe virus. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1965;119:608–611.

20. Weissenbacher MC, Coto CE, Calello MA. Cross-protection between Tacaribe complex viruses: presence of neutralizing antibodies against Junin virus (Argentine hemorrhagic fever) in guinea pigs infected with Tacaribe virus. *Intervirology*. 1975;76:42-49.
21. Coto CE, Damonte EB, Calello MA, Weissenbacher MC. Protection of guinea pigs inoculated with Tacaribe virus against lethal doses of Junin virus. *J Infect Dis*. 1980;141:389-393.
22. Damonte EB, Calello MA, Coto CE, Weissenbacher MC. Inmunización de cobayos contra la fiebre hemorrágica argentina con virus Tacaribe replicado en células diploides humanas. *Medicina* (Buenos Aires). 1981;41:467-470.
23. Weissenbacher MC, Coto CE, Calello MA, Rondinone SN, Damonte EB, Frigerio MJ. Cross-protection in nonhuman primates against Argentine hemorrhagic fever. *Infect Immun*. 1982;35:425-430.
24. Samoilovich SR, Pecci Saavedra J, Frigerio MJ, Weissenbacher MC. Nasal and intrathalamic inoculations of primates with Tacaribe virus: protection against Argentine hemorrhagic fever and absence of neurovirulence. *Acta Virol*. 1984;28:277-281.
25. Samoilovich SR, Calello MA, Laguens RP, Weissenbacher MC. Long-term protection against Argentine hemorrhagic fever in Tacaribe virus infected marmosets: virologic and histopathologic findings. *J Med Virol*. 1988;24:229-236.
26. Kenyon RH, McKee KT Jr, Barrera Oro JG, Ragland D, Crabbs C, Higgins Y. Protective efficacies in rhesus monkeys of Candid 1 strain Junin virus (JV) and Tacaribe virus against aerosol challenge with virulent JV. Honolulu, Hawaii: American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1989. (Abstract 136, 38th Annual Meeting).
27. Peters CJ, Jahrling PB, Liu CT, Kenyon RH, McKee KT Jr, Barrera Oro JG. Experimental studies of arenaviral hemorrhagic fevers. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1987;134:5-68.
28. Weissenbacher MC, Damonte EB. Fiebre hemorrágica argentina. *Ade Microbiol Enf Infec*. 1983;2:119-171.
29. Mettler NE, Casals J, Shope RE. Study of the antigenic relationships between Junin virus, the etiological agent of Argentinean hemorrhagic fever, and other arthropod-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg*. 1963;12:647-652.
30. Casals J. Serological studies on Junin and Tacaribe viruses. *Am J Trop Med Hyg*. 1965;14:794-795.
31. Rugiero HA, Magnoni C, Guerrero LB de, et al. Persistence of antibodies and clinical evaluation in volunteers 7 to 9 years following the vaccination against Argentine hemorrhagic fever. *J Med Virol*. 1981;7:227-232.
32. Guerrero LB de, Weissenbacher MC, Parodi AS. Inmunización contra la fiebre hemorrágica argentina con una cepa atenuada del virus Junin; I: estudio de una cepa modificada del virus Junin, inmunización de cobayos. *Medicina* (Buenos Aires). 1969;29:1-5.
33. Rugiero HA, Astarloa L, González Cambaceres C, Maglio F, Squassi G. Inmunización contra la fiebre hemorrágica argentina con una cepa atenuada de virus Junin; II, inmunización de voluntarios, análisis clínico y del laboratorio. *Medicina* (Buenos Aires). 1969;29:81-92.
34. Weissenbacher M, Guerrero LB de, Help G, Parodi AS. Inmunización contra la fiebre hemorrágica argentina con una cepa atenuada de virus Junin; III, reacciones serológicas en voluntarios. *Medicina* (Buenos Aires). 1969;29:88-92.
35. Rugiero HA, Magnoni C, Cintora FA, et al. Inmunización contra la fiebre hemorrágica argentina con una cepa atenuada de virus Junin: análisis de 636 vacunados. *Pren Med Argent*. 1974;61:231-240.
36. Contigiani MS, Sabattini MS. Virulencia diferencial de cepas de virus Junin por marcadores biológicos en ratones y cobayos. *Medicina* (Buenos Aires). 1977;37:244-251.
37. Ávila MM, Samoilovich SR, Weissenbacher MC. Infección del cobayo con la cepa atenuada del virus Junin XJC₁. *Medicina* (Buenos Aires). 1979;39:597-603.
38. Carballal G, Cossio PM, de la Vega MI, et al. Neurovirulencia de la cepa XJC₁ de virus Junin en un primate sudamericano. Córdoba, Argentina: III Congreso Argentino de Microbiología; 1982. (Compendio 186).
39. Laguens RM, Ávila MM, Samoilovich SR, Weissenbacher MC, Laguens RP. Pathogenicity of an attenuated strain (XJC₁) of Junin virus: morphological and virological studies in experimentally infected guinea pigs. *Intervirology*. 1983;20:195-201.
40. Ávila MM, Laguens RM, Laguens RP, Weissenbacher MC. Selectividad tisular e indicadores de virulencia de tres cepas del virus Junin. *Medicina* (Buenos Aires). 1981;41:157-166.

41. Malumbres E, Boxaca MC, Guerrero LB de, Berria M, Lascano EF. Persistence of attenuated Junin virus strains in guinea pigs infected by IM or IC routes. *J Infect Dis.* 1984;149:1022.
42. Ávila MM, Frigerio MJ, Weber EL, et al. Attenuated Junin virus infection in *Callithrix jacchus*. *J Med Virol.* 1985;15:93–100.
43. Guerrero LB de, Boxaca MC. Estudio preliminar de una variante atenuada del virus Junín derivada de la cepa prototipo XJ. *Medicina* (Buenos Aires). 1980;40:267–274.
44. Boxaca MC, Guerrero LB de, Weber EL, Malumbres E. Protección inducida en cobayo por la variante XJ₀ del virus Junín. *Medicina* (Buenos Aires). 1981;41:25–34.
45. Guerrero LB de, Boxaca MC, Rabinovich RD, Malumbres E. Evolución de la infección en cobayos infectados con la variante atenuada XJ₀ del virus Junín. *Rev Argent Microbiol.* 1983;15:205–212.
46. Boxaca MC, Guerrero LB de, Malumbres E. Modification of Junin virus neurotropism in the guinea pig model. *Acta Virol.* 1984;28:198–203.
47. Guerrero LB de, Boxaca MC, Malumbres E, Mercedes Gómez M de las. Pathogenesis of attenuated Junin virus in the guinea pig model. *J Med Virol.* 1985;15:197–202.
48. Eddy GA, Barrera Oro JG. Discusión general. *Medicina* (Buenos Aires). 1977;37(Supl 3):257–259.
49. Barrera Oro JG, Eddy GA. Characteristics of candidate live attenuated Junin virus vaccine. Banff, Alberta, Canada: International Conference on Comparative Virology; 1982. (Abstract S4-10).
50. Lupton HW, Cole FE, Moe J, et al. Safety and efficacy of a live, attenuated vaccine against Argentine hemorrhagic fever. Sendai, Japan: Sixth International Congress of Virology; 1984. (Abstract P27-22).
51. McKee KT Jr, Green DE, Mahlandt BG, et al. Infection of Cebus monkeys with Junin virus. *Medicina* (Buenos Aires). 1985;45:144–152.
52. McKee KT Jr, Barrera Oro JG, Kuehne AI, Spisso J, Mahlandt BG. Immunogenicity and prospective capacity of a live, attenuated Argentine hemorrhagic fever (AHF) vaccine in primates. Calgary, Canada: XI International Congress for Tropical Medicine and Malaria; 16–22 September 1984. (Abstract).
53. Barrera Oro JG, McKee KT Jr, Kuehne AI, et al. Preclinical trials of a live, attenuated Junin virus vaccine in rhesus macaques. Paris, France: Institut Pasteur Symposium on Vaccines and Vaccinations; 1985. (Abstract P28).
54. Lupton HW, Jahrling PB, Barrera Oro JG, Peters CJ. Cross-protection against Machupo virus with Candid #1 live-attenuated Junin virus vaccine: II, post-challenge virological and immunological findings. Mar del Plata, Argentina: Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of Latin American Countries and the Caribbean Region; 1988. (Abstract PE2).
55. Jahrling PB, Trotter RW, Barrera Oro JG, et al. Cross-protection against Machupo virus with Candid #1 Junin virus vaccine: III, post-challenge clinical findings. Mar del Plata, Argentina: Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of Latin American Countries and the Caribbean Region; 1988. (Abstract PE3).
56. MacDonald C, McKee KT Jr, Peters C, Feinsod F, Cosgriff T, Barrera Oro JG. Initial clinical assessment of humans inoculated with a live-attenuated Junin virus vaccine. Edmonton, Alberta, Canada: VII International Congress of Virology; 1987. (Abstract R3.27).
57. Maiztegui JI, McKee KT Jr. Inoculation of human volunteers with a vaccine against Argentine hemorrhagic fever. Banff, Alberta, Canada: Sixth International Conference on Comparative and Applied Virology; 1989. (Abstract S4).
58. Clegg JC, Lloyd G. Vaccinia recombinant expressing Lassa-virus internal nucleocapsid protein protects guinea pigs against Lassa fever. *Lancet.* 1987;2(8552):186–188.
59. Auferin DD, Esposito JJ, Lange JV, et al. Construction of a recombinant vaccinia virus expressing the Lassa virus glycoprotein gene and protection of guinea pigs from a lethal Lassa virus infection. *Virus Res.* 1988;9:233–248.
60. Morrison HG, Bauer SP, Lange JV, Esposito JJ, McCormick JB, Auferin DD. Protection of guinea pigs from Lassa fever by vaccinia virus recombinants expressing the nucleoprotein or the envelope glycoproteins of Lassa virus. *Virology.* 1989;171:179–188.
61. Fisher-Hoch SP, McCormick JB, Auferin DD, et al. Protection of rhesus monkeys from fatal Lassa fever by vaccination with a recombinant vaccinia virus containing the Lassa virus glycoprotein gene. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1989;86:317–321.
62. Johnson KM. Status of arenavirus vaccines and their application. *Bull WHO.* 1975;52:729–735.

SUMMARY

TOWARD A VACCINE AGAINST ARGENTINE HEMORRHAGIC FEVER

A vaccine against Argentine hemorrhagic fever, the "mal de los rastrojos" of the pampas, has been a dream of physicians and scientists involved with the disease

since its recognition in the 1950s. Several killed and live immunogens have been produced and tested in pursuit of this goal, none of which has proved suitable for widespread human use. Recently, a new live-attenuated Junin virus vaccine, Candid #1, was developed through a cooperative international effort. Testing conducted to date indicates that this vaccine holds considerable promise.

Los médicos que apoyaron los planes de Colón

Se sabe que por interés personal y por el ambiente que lo rodeaba, Cristóbal Colón adquirió algunos conocimientos de medicina y sostuvo estrechas relaciones con destacados médicos de la época. Hay quienes afirman que fue el médico florentino Paolo del Pozzo Toscanelli quien dio a Colón la idea de una ruta a las Indias y los detalles necesarios para la expedición. Toscanelli (1397-1484) era astrónomo, astrólogo, geógrafo, cosmógrafo y profesor de medicina, y tenía gran interés en la navegación y los descubrimientos. Se dice que después de lograr clandestinamente acceso a manuscritos y mapas de Toscanelli que el rey de Portugal guardaba celosamente, Colón estableció correspondencia con el florentino. Se suponen dos cartas de Toscanelli a Colón, alentándolo a seguir adelante con sus proyectos, en las que menciona una ruta más corta a la India y una carta náutica que le enviaba.

Colón también consultó, en el monasterio de la Rábida, manuscritos del médico Juan de Madevilla Monge en los que hablaba de la redondez de la tierra. Además, había otros dos médicos que formaban una junta o comité marítimo, el maestro Rodrigo y el maestro José Vizinho, cuyos trabajos de investigación incitaron a Colón a persistir en sus propósitos. En 1491, solo meses antes de emprender la primera expedición, Colón conoció a un joven médico de gran cultura llamado Garci-Hernández, el cual participó directamente en conseguirle el apoyo financiero de la Reina Isabel y en la selección de los médicos y del farmacéutico que acompañaron la expedición.

Fuente: Cabezas Solera E. *La medicina en América: antecedentes* San José Editorial Nacional de Salud y Seguridad Social, 1990:100-101