

PRESENTE Y FUTURO DE LA PROFILAXIS DE LA POLIOMIELITIS^{1, 2}

PIERRE LEPINE

Jefe del Servicio de Virus, del Instituto Pasteur, París

MÉTODOS PROFILÁCTICOS

Aparte de las medidas generales de higiene y de los trabajos de ingeniería sanitaria, a los que no nos referiremos en el presente estudio, y que van encaminados a la colectividad social en su conjunto, la protección individual o colectiva contra una enfermedad infecciosa puede garantizarse, bien sea por uno de los medios en que se apoya la defensa orgánica contra la infección, o bien por la combinación de varios de ellos. Estos medios son los siguientes:

1. la quimioprofilaxis
2. la inmunización pasiva
3. la inmunización activa

A pesar de las controversias, que ya no tienen más que un interés histórico, no hay razón alguna para creer que el problema de la inmunidad, en cuanto se refiere a la poliomiélitis, sea en lo fundamental distinto del de las demás enfermedades infecciosas, con excepción de algunos factores, tales como el contagio del virus y la epidemiología de la infección. Con este criterio trataremos el problema.

QUIMIOPROFILAXIS

Hasta el presente, no se dispone de ningún medio quimioprofiláctico eficaz para la prevención de la poliomiélitis. La multiplicidad y amplitud de las posibles vías de entrada del virus excluyen la profilaxis local tal como se propuso en determinado momento, a raíz de los trabajos de Schultz y Gebhardt (67, 68) mediante la aplicación de sustancias astringentes a la mucosa del olfato. Harmon (30), Toomey (71), y Levaditi y Lépine (42), mostraron que dicho método no

ofrecía ninguna garantía de eficacia y que presentaba ciertos peligros.

Las investigaciones experimentales realizadas por Lépine *et al.* (43) mostraron que las ribonucleas de los venenos de ciertas serpientes aseguraban en los ratones una protección significativa después de la infección con virus del tipo 2. Sin embargo, a causa de la misma toxicidad del producto, no se puede obtener ningún método práctico para la profilaxis de la poliomiélitis, aunque la aplicación de veneno de naja parece haber producido algunos resultados en el tratamiento experimental de la poliomiélitis (Sander, Akin y Soret (65)).

Se han examinado gran número de sustancias naturales o sintéticas y han sido objeto de investigaciones experimentales con el fin de poder lograr una quimioprofilaxis o quimioterapia de la poliomiélitis. Entre los trabajos más recientes podemos citar los de Jungeblut (33), los de Schnitzer, Buck y Steiger (66) sobre los compuestos de la naftoquinonimina, los de Brown y Ackermann (9) sobre la inhibición del cultivo del virus mediante la DL-etionina, así como los de Gershoff *et al.* (21) sobre la influencia de un régimen que incluya un exceso de metionina asociado a una carencia de triptófano. Cabe mencionar también las investigaciones sobre la influencia inhibitoria ejercida en los cultivos por ciertos productos análogos de los aminoácidos naturales, tales como la etionina ya citada, la tienil-2- β alanina, así como sustancias análogas a los productos metabólicos de purinas, estudiadas por Brown (8), en particular la diamino-2,6-purina y el benzimidazol. Asimismo, podemos citar las numerosas investigaciones efectuadas por diversos autores 2, 20, 36, 48, 52, 54, 72), sobre los metabolitos, los anti-metabolitos o sustancias derivadas, que nos proporcionan indicaciones interesantes sobre los medios que pueden conducir a apli-

¹ El presente estudio se publica tal como se presentó en la Conferencia de Francfort-del-Meno, en marzo de 1954.

² Publicado en francés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 13, No. 3, 1955.

caciones eventuales, pero que, hasta el momento, no han deparado ningún resultado decisivo que sirva de base para establecer métodos profilácticos.

Las sustancias derivadas de cultivos de organismos productores de antibióticos (Shope (69), Cochran *et al.* (11)) han dado resultados bastante desalentadores. Por último, los antisépticos, en particular el hexaclorofeno (Klarenbeek (34)), el óxido de etileno (Klarenbeek y Tongeren (35)) y los antisépticos tensioactivos (Faber y Dong (16, 17)) ofrecen indudable interés en el campo de la higiene, pero no pueden servir para una profilaxis individual sistemática.

Por consiguiente, la quimioprofilaxis no ha logrado, hasta hoy, más que resultados negativos en su conjunto, lo que no quiere decir que las investigaciones que actualmente se realizan en numerosos laboratorios no lleguen algún día a descubrir un cuerpo que permita lograr una profilaxis química eficaz que, por el momento, es todavía hipotética.

INMUNIZACION PASIVA

La protección de los individuos por medio de la inmunización pasiva es un problema que se viene tratando desde hace mucho tiempo. Para no trazar su trayectoria histórica remontándonos hasta las observaciones de Netter y Levaditi (51) y los primeros ensayos de Davide (13), basta con recordar que, en el pasado, fué objeto de numerosos trabajos, sin que se llegara a ninguna conclusión definitiva. Se volvió a plantear la cuestión cuando se propuso aplicar, para la protección de los individuos sensibles, la globulina gamma (Hammon (22)), producto del fraccionamiento de suero humano, cuya eficacia se había mostrado por las investigaciones experimentales en animales (Bodian (4, 5) Rhodes y Clark (55)).

Después de varios ensayos practicados en escala limitada, en 1952 se pudo llevar a cabo, en los Estados Unidos de América, una amplia experimentación patrocinada por la Fundación Nacional para la Parálisis

Infantil y realizada por Hammon y sus colaboradores (25, 26, 27).

El análisis final de los resultados (28) de esta primera campaña permitió llegar a la siguiente conclusión:

La globulina gamma de la Cruz Roja norteamericana, administrada en dosis media de 0,14 ml. por libra de peso corporal (0,31 ml. por Kg.) en el curso de los ensayos controlados, hechos en tres zonas epidémicas (Utah, Iowa-Nebraska, Texas), aseguró una protección significativa contra la poliomielititis. Estas conclusiones están basadas en el estudio de 104 casos de enfermedad parálitica ocurridos en un grupo total de 54.772 niños, la mitad de los cuales (27.386) recibieron la globulina gamma, y el resto, una inyección testigo de gelatina.

El período de observación duró 14 semanas. Los casos ocurridos durante la primera semana siguiente a la inyección de globulina gamma, no fueron menos numerosos entre los tratados que entre los testigos; sin embargo, según los autores, su gravedad fué modificada de modo significativo.

Durante el período siguiente de 4 semanas, se apreció un grado elevado, aunque no completo, de protección. Desde la sexta a la octava semana siguiente a la inyección, la protección fué desapareciendo y, a partir de la octava semana, ya no se observó protección alguna. Estas son, en realidad, las características de una protección pasiva.

Por otra parte, y para comprobar la validez de los grupos testigos, se investigó si existía la menor indicación de que las inyecciones de gelatina hubiesen podido localizar o provocar la parálisis. No se pudo comprobar ninguna coincidencia de este tipo, y no se observó ninguna diferencia entre los testigos y el resto de la población no inoculada de las mismas zonas, es decir, que la simple inyección no aumenta el riesgo de contraer la poliomielititis.

En realidad, si se examinan los resultados conjuntos de todas las zonas, se observa que la protección proporcionada por la globulina gamma fué bastante notable, el resultado del estudio, suficientemente amplio, y la

frecuencia epidémica lo bastante elevada para confirmar que, realmente, no se necesitaba ningún grupo testigo para demostrar la eficacia de la protección.

Por lo tanto, el experimento, en conjunto, dió buenos resultados, y a primera vista pareció muy alentador.

Sin embargo, no hay que olvidar que el empleo de la globulina gamma está sujeto a limitaciones que el propio Hammon (23) puso de relieve. Estas limitaciones son, fundamentalmente, las siguientes:

Por un lado, la escasez de globulina gamma, y por otro, su elevado costo, junto con la breve duración de la protección pasiva que proporciona, excluyen toda posibilidad de aplicar de un modo general el método a toda una población, y más aún la de repetir sistemáticamente y sin distinción las inyecciones de globulina gamma como medida de protección.

En consecuencia, no queda otro recurso que limitar la aplicación al período de epidemias, a los focos de infección definidos y, dentro de ellos, a los grupos de edad y a los individuos más expuestos al contagio. Así, pues, el empleo de la globulina gamma deberá limitarse forzosamente a los contactos y al medio familiar de los enfermos, a las colectividades infectadas (escuelas, guarderías, maternidades) y a determinados individuos (embarazadas, niños pequeños).

El hecho de que, en la actualidad, no sea posible determinar previamente cuáles son, en una población determinada, los individuos receptivos, que pueden contraer la poliomielitis, y cuáles los inmunes, que no corren peligro de contraerla, da lugar a que se inyecte la globulina gamma no sólo a individuos que tal vez no se contagiarían, sino también a otros que, aunque se contagiaran, no adquirirían parálisis. ¿Cuál es, pues, de las inyecciones puestas, la proporción de las que resultan realmente eficaces?

Los investigadores norteamericanos pudieron ensayar su método en focos epidémicos en que el índice de morbilidad se elevaba a 400 por 100.000 habitantes. Y calculan que, en esas circunstancias, la globulina gamma

protegió efectivamente contra la parálisis en un caso por 250-300 inyecciones aplicadas. Si el índice de morbilidad hubiera sido el de los Estados Unidos en su conjunto, la proporción real correspondería a una protección de 1 por 2.000 inyecciones aplicadas. La proporción sería todavía mucho menor en la mayoría de los países europeos.

Aun en el caso de que se pudieran limitar las inyecciones a los contactos seguros, seguirían siendo inútiles la mayoría de ellas, pues, como hemos indicado, la protección no tiene efecto hasta después de una semana, y según los estudios estadísticos, es precisamente durante este período cuando ocurre el 90% de los casos secundarios alrededor de un caso declarado. Por consiguiente, la profilaxis en el medio infectado no surte efecto más que en el 10% de los casos secundarios que pueden producirse al cabo de una semana.

Conviene recordar, al respecto, el excelente estudio estadístico de Hemmes (31). Este autor ha demostrado—aplicando a Holanda las cifras de Hammon, y suponiendo que, durante la epidemia de 1952, los 53.600 niños de Limburgo hubiesen recibido un total de 210 litros de globulina gamma—que el número de defunciones, que fué de 18, hubiera disminuído a 17, ó a 14 ó 15 a partir del momento en que se hubieran aplicado las inyecciones, y que el número de casos de parálisis con secuela, que alcanzó a 56, sólo habría descendido a 42 ó 43, a causa de la reducida eficacia de las globulinas administradas en un término menor de ocho días antes de la aparición de la enfermedad.

Esta observación ha sido confirmada por los resultados más recientes de la aplicación de la globulina gamma en la profilaxis de la poliomielitis, que tuvo lugar en los Estados Unidos durante la temporada de 1953 (75). En el curso de estos ensayos—justificados por los resultados obtenidos en 1952, que hemos descrito anteriormente—en 13 Estados diferentes, 255.000 niños recibieron inoculaciones preventivas de globulina gamma en 23 colectividades sometidas a observación. El análisis final de los resultados mues-

tra que no existe una diferencia sensible entre el grupo de niños tratados y el de niños testigos. Sumando los resultados de cinco condados, se observaron 43 casos de poliomielitis entre los niños testigos y 48 entre los tratados.

¿Cómo se explica esta diferencia entre los resultados de 1953 y los obtenidos en 1952? Es evidente que la administración de globulina gamma a grupos tan amplios como los de 1953 ha dado lugar a que se aplicara a casos menos seleccionados que en el experimento de 1952, e, incluso, cabe formular la objeción de que, en ciertos casos, se pusiera en duda el diagnóstico de poliomielitis, efectuado tanto en los testigos como en los tratados.

Sin embargo no cabe duda de que las condiciones de aplicación de la globulina gamma en los Estados Unidos se acercaron más a la realidad en 1953 que en 1952, por lo que se refiere a la generalización y aplicación corriente del método. Este experimento permitió, especialmente, observar si la aplicación de la globulina gamma a los contactos desde la aparición de un caso ocurrido en una familia o en una pequeña colectividad lograría reducir el número de casos que cabía esperar. Los resultados no respondieron a lo que se esperaba, y según el informe resumido del Comité Consultivo publicado en *Public Health Reports* (74):

"No se pudo demostrar ningún efecto favorable de la aplicación en masa de inyecciones de globulina gamma a niños de zonas epidémicas o a los miembros de la familia de enfermos de poliomielitis. . . Sin embargo, los datos obtenidos mostraron que la inoculación de los contactos familiares con globulina gamma en cuanto apareció el primer caso en un hogar no redujo el número de casos subsiguientes en dicho hogar, de igual modo que la inoculación de personas expuestas antes de que contrajeran la poliomielitis parálitica tampoco produjo efecto notable alguno sobre la parálisis". [Trad.]^a

" . . . no beneficial effects were demonstrated from the use of gamma globulin in the mass inoculation of children in epidemic areas or from inoculation of members of the families of poliomyelitis patients". . . .

Por consiguiente, desde el punto de vista práctico, la profilaxis de la poliomielitis mediante las globulinas ha sido, en definitiva, un completo fracaso, aun cuando en el aspecto teórico no esté desprovista de interés y haya contribuido, particularmente, a demostrar que una reducida proporción de anticuerpos podía bastar para impedir la aparición de la parálisis, comprobación que reviste considerable importancia con respecto a la vacunación (29).

Ahora bien, ¿quiere esto decir que toda inyección de globulina gamma que no ha evitado la aparición de una parálisis ha sido totalmente inútil?

La respuesta no puede ser categórica, puesto que ignoramos todavía en qué medida la eventualidad de una contaminación en un individuo protegido temporalmente por la inmunización pasiva, favorece, retarda o impide el desarrollo de una inmunidad activa. Trataremos de esta cuestión más adelante al referirnos a la inmunización por vacunación.

Hammon, Cheever y Sather (24) han demostrado experimentalmente que la protección pasiva de los ratones, por medio de globulina gamma humana, contra una infección por la cepa MEF1 de virus 2, no impide el desarrollo de una inmunidad activa. Existen motivos para creer que el mismo fenómeno ocurre en el hombre, y que la ausencia aparente de poliomielitis en las colectividades o grupos de población en que el nivel de higiene es bajo (indígenas de Africa del Sur, nativos de Okinawa, fellahs de Egipto) se debe, como indican los estudios, clásicos ya, de Gear, Hammon, de Paul y otros, a una infección muy precoz del niño durante su primer año de vida, cuando está todavía protegido pasivamente por los anticuerpos

"However, the data collected showed that inoculation of family contacts with gamma globulin as soon as the first case in a household was recognized did not reduce the number of subsequent cases in the household nor did the inoculation of exposed persons before they developed paralytic poliomyelitis produce a measurable effect on the paralysis."

maternos que recibió por vía placentaria y, tal vez, por la leche de la madre.

De esta manera, la aplicación más lógica de globulina gamma nos lleva directamente al estudio de la inmunización activa, única esperanza que nos queda, en la actualidad, de detener el avance de este azote de la humanidad.

INMUNIZACION ACTIVA: VACUNACION

Desde que Landsteiner y Popper aislaron, en 1909, el virus de la poliomielitis infecciosa, todas las esperanzas se concentraron en el descubrimiento de una vacuna eficaz. Sin embargo, al cabo de cuarenta años de trabajo apenas se había avanzado hacia la solución del problema.

La parte esencial de los resultados obtenidos hasta los últimos tiempos aparece en la amplia, aunque incompleta, revista dedicada recientemente por Boyd (7) a la vacunación contra la poliomielitis. La conclusión desalentadora que se deduce del análisis de varios centenares de trabajos, en los que figuran los nombres de los investigadores más eminentes, se debe, en parte, a razones técnicas: escasez y elevado costo de los monos, lo cual limita los ensayos a pequeños grupos de animales; insuficiencia de los métodos de titulación del virus y de los anticuerpos; ignorancia de la multiplicidad de los tipos antigénicos del virus; fracaso de los métodos de producción *in vitro* del virus. Estas dificultades técnicas han sido ya superadas en gran parte.

No obstante, para lograr un método práctico de vacunación, hay que vencer todavía los obstáculos más graves, inherentes al problema, y que, puestos de manifiesto desde hace mucho tiempo (39), constituyen la esencia de la cuestión.

A primera vista, el problema puede parecer relativamente sencillo. Se trata, en resumidas cuentas, de imitar lo que hace la naturaleza en las poblaciones en que el nivel higiénico es bajo, o en aquellos sectores menos favorecidos de regiones económicamente más desarrolladas, al proporcionar una inmunización espontáneamente ad-

quirida a casi todos los individuos. Sabemos actualmente que esta inmunización se produce gracias a infecciones inaparentes y a una edad lo bastante precoz para que apenas exista el peligro de parálisis. Es muy probable que esto se deba, en parte, al hecho de la persistencia en el recién nacido de anticuerpos maternos recibidos por vía placentaria y que permiten al organismo una inmunización activa bajo la protección pasiva materna.

La solución que se busca consiste en reproducir en el niño, especialmente en aquellos países en que el nivel de higiene es muy elevado, lo que la naturaleza produce espontáneamente en los niños de las regiones menos desarrolladas, es decir el desarrollo de una inmunidad contra los tres tipos del virus, sin tener que pagar el tributo de la inmunización natural que representan las poliomielitis parálíticas que se producen en un reducido número de niños infectados espontáneamente.

En realidad, el problema es sumamente complejo, pues el investigador que trata de elaborar un método práctico debe luchar contra factores desfavorables cuya importancia no puede dejar de reconocer.

El primero de estos obstáculos es de orden práctico: el virus de la poliomielitis, lo mismo que los demás virus, no se desarrolla en los medios bacteriológicos corrientes. Pero, en tanto que otros virus, como el de la influenza o el de la psitacosis, pueden obtenerse en cantidades casi limitadas, mediante métodos de cultivo relativamente sencillos en huevos de gallina incubados, el virus de la poliomielitis no ha podido ser adaptado de manera satisfactoria, hasta muy recientemente, más que en células vivas de especies animales sensibles, es decir, esencialmente de hombre y de mono. Mientras el mono ha sido el único reactivo utilizable, el elevado costo de dicho animal y, especialmente la pequeña cantidad de virus recogida en su sistema nervioso, han constituido un obstáculo infranqueable a la obtención de las grandes cantidades de virus indispensables para la producción de una vacuna.

En 1951, Enders y sus colaboradores lograron, en Boston, el cultivo *in vitro* del virus de la poliomielitis en células obtenidas de embriones humanos, y susceptibles de multiplicación indefinida en medios de composición relativamente simple. Su técnica, esmerada y precisa, se basó en un hecho ya descubierto por Levaditi en 1913 (45), pero que se había olvidado; es decir, que, contrariamente a la afirmación de que sólo el sistema nervioso podía ofrecer un medio de cultivo favorable (Sabin y Olitsky (60)), las células no nerviosas, y en particular los fibroblastos, no solamente podían ser infectadas por el virus, sino que, además, se podía conseguir su multiplicación ilimitada mediante un número indefinido de pases. Este método dió origen a numerosas técnicas. Las más interesantes son las que utilizan células renales de monos (Youngner, Ward y Salk (76), amígdalas humanas de adultos (Barski *et al.* (1)) o diferentes cepas de células tumorales de origen humano (Syverton (70)).

Las mismas propiedades del virus constituyen otros obstáculos más graves. En primer lugar, el virus es un antígeno mediocre que suscita, para una misma dosis, reacciones individuales irregulares y, con frecuencia, transitorias. Esto es bien distinto, por ejemplo, de la firme y constante respuesta del organismo al virus vacunal. La gran resistencia al virus de que dan muestra ciertas poblaciones se debe, no sólo a su inmunización precoz durante la primera infancia, sino también, y tal vez en mayor grado, a las frecuentes reinfecciones en el curso de la vida. Por otra parte, la ausencia de estas reinfecciones en las poblaciones más adelantadas, es la causa de que, en la actualidad, presenciemos la aparición de la enfermedad en períodos cada vez más avanzados de la vida. De ello se deduce que habrán de necesitarse grandes cantidades de virus para vacunar a un individuo, y que su inmunización corre el peligro de ser de breve duración.

Otro obstáculo es el hecho de que, tanto la clínica y la epidemiología como la experimentación, han mostrado desde hace mucho

que, en los individuos normales, la resistencia adquirida al virus de la poliomielitis está sujeta a importantes fluctuaciones debidas a factores fisiológicos, endocrinos, climáticos y estacionales (Hornus (32)). Por lo tanto, si se puede determinar un nivel medio de inmunidad adquirida para el conjunto de una población—como puede hacerse, por ejemplo, en el caso de la difteria—resulta más difícil definir, con respecto a un individuo dado, el grado de su inmunidad natural o adquirida.

Por último, la existencia de varios tipos antigénicos de virus de la poliomielitis, probada experimentalmente a partir de 1950, ha sido confirmada por el aislamiento y tipificación de un gran número de cepas en todo el mundo.

Estas cepas pueden clasificarse en tres tipos antigénicos, que no tienen, entre sí, inmunidad cruzada.

Los primeros resultados obtenidos en 1951 (73) mostraron que los diferentes tipos estaban distribuidos de la forma siguiente: tipo 1, 85%; tipo 2, 12%; tipo 3, 3%. En 1953, los resultados obtenidos por Pait *et al* (53) indicaron las siguientes proporciones: tipo 1, 80%; tipo 2, 6%; tipo 3, 14%. Con respecto a Francia, por ejemplo, la proporción de los distintos tipos (Lépine, Barski, Endo y Blusson (41)) es de 78% del tipo 1, 6% del tipo 2 y 16% del tipo 3.

Con variaciones en más o menos, se han obtenido resultados análogos en los distintos países, de forma que se puede decir que, en conjunto, aproximadamente el 80% de los casos de poliomielitis que ocurren actualmente se deben al tipo 1, del 5 al 8%, al tipo 2, y del 12 al 15%, al tipo 3. En las grandes epidemias sólo se ha encontrado el tipo 1, el más corriente, y el tipo 3, que es el más raro. Al parecer, el tipo 2 sólo origina casos esporádicos o limitados a pequeños grupos; pero parece que, en comparación con los otros dos tipos, determina una frecuencia más elevada de formas encefálticas, de localización del tipo superior o de sintomatología atípica. Parece que aumenta la frecuencia de los tipos 2 y 3, originalmente

considerados como raros, de tal modo que, en definitiva, ya no se trata de elaborar un solo método de vacunación, sino tres, contra los virus que tienen características y afinidades diferentes.

Queda todavía un obstáculo, que no es precisamente el menor. Por inquietante que sea la poliomiélitis en la fase actual de su evolución, sigue siendo una enfermedad relativamente rara y contra la cual se inmunizan espontáneamente la inmensa mayoría de los individuos por medio de infecciones inaparentes. En Francia, por ejemplo, las posibilidades de que un individuo contraiga la enfermedad han representado, en el curso de los diez últimos años y para el conjunto de la población, una proporción de 3,3 por 100.000 habitantes.

De todo ello se deducen dos observaciones, una de orden deontológico y otra de orden epidemiológico, y ambas con repercusiones de carácter práctico. La primera, es que, sea cual fuese el método de inmunización adoptado, los riesgos de accidentes que puede entrañar (inherentes a todo método de vacunación) no deberán, por ningún concepto, ser iguales o superiores a las posibilidades de contraer la poliomiélitis. La segunda es la de que, para juzgar cualquier método de vacunación, tanto en el aspecto de eficacia como en el de inocuidad, los grupos de individuos observados habrán de estar constituidos de tal forma que descarten la posibilidad de que las diferencias estadísticas estén sujetas a la influencia del azar. Es decir, habrá que vacunar a cientos de miles de individuos para poder observar una diferencia significativa respecto del sector de población no vacunada. Incluso si se seleccionan los grupos de edades más susceptibles, las cifras que habrán de observarse serán miles de veces más elevadas que para cualquier método de vacunación ensayado hasta ahora, si nos atenemos únicamente a los métodos estadísticos de apreciación de los resultados.

Si se calcula que, para Francia, un grupo indiscriminado de 250.000 individuos (entre los que habría la posibilidad de observar,

en época de epidemia, un promedio de 7 u 8 casos de poliomiélitis) podría constituir, en el sentido estricto, un grupo mínimo de individuos que vacunar, para las regiones más meridionales, tales como los países de Africa, la cifra del grupo precedente habría de multiplicarse, cuando menos, por cuatro o cinco.

Hechas estas observaciones, ¿cuáles son los métodos que se pueden considerar actualmente tanto en el orden teórico como en el práctico? ¿Cuáles son, entre estos métodos, los que han sido objeto de controles experimentales y cuáles los que cabe esperar que pronto llegarán a la fase de aplicación práctica?

Si se considera la cuestión desde un punto de vista puramente teórico, se nos ofrecen tres posibilidades en la investigación encaminada a lograr una inmunización activa contra la poliomiélitis y a la obtención de una vacuna de utilización práctica. Se trata de las siguientes:

1. el empleo de cepas *virulentas, inactivadas*, es decir, la inyección de un virus muerto, cuyo efecto inmunizador puede reforzarse por la presencia de coadyuvantes;
2. el empleo de cepas *atenuadas*, es decir, administración por vía digestiva de un virus vivo no patógeno;
3. el empleo de cepas *neutralizadas*, es decir, la inmunización por un virus activo, bajo una protección pasiva proporcionada por anticuerpos específicos.

Cepas virulentas inactivadas

El empleo de cepas activas, plenamente virulentas, de virus poliomiélfítico, muertas o, mejor dicho, inactivadas, para que puedan servir de vacuna, requiere que se disponga de cantidades abundantes del virus (en realidad, de cada uno de los tres tipos de virus) en estado de máxima virulencia; la vacuna deberá administrarse por inyecciones, como se hace, por ejemplo, en el caso de la vacuna antitífica.

El problema, en este caso, se concentra en el cultivo de virus *in vitro*. Tenemos que renunciar prácticamente, a la idea, que se tuvo en tiempos pasados, de utilizar el

sistema nervioso de animales, tales como los monos, o en todo caso múridos, inoculados con el virus, pues la inyección de una vacuna que contuviera tejido nervioso heterólogo expondría a graves accidentes de encefalomiелitis demielinizante (o leuconeuraxitis alérgica). El obstáculo con que se ha tropezado hasta ahora en la realización de cultivos *in vitro* no radica en el virus, sino en las células vivas que deben servirle de apoyo.

Es casi unánime la opinión de que hay que eliminar de una vez, las técnicas en que se utilizan células humanas de origen tumoral (especialmente la cepa HeLa). Lo que se sabe del determinismo del cáncer en el hombre es todavía demasiado limitado para correr el riesgo de inyectar células de naturaleza maligna, aun cuando estén muertas. Por consiguiente, no nos queda más que escoger entre las técnicas que utilizan riñón de mono o las que emplean células humanas normales, adultas o embrionarias. Las primeras de estas técnicas presentan el peligro de hacer aparecer, eventualmente, en los individuos que hubieren recibido células heterólogas, anticuerpos anti-Rh o antiórganos (anti-riñón, en este caso particular). Las segundas tropiezan con obstáculos, bien prácticos (dificultad de obtener embriones humanos en la mayoría de los países europeos) o técnicos (lentitud del ritmo de multiplicación de las células humanas adultas).

Por último, algunos autores han lanzado la hipótesis, no confirmada hasta ahora, de que toda célula en cultivo *in vitro* adquiere *ipso facto* un carácter neoplástico (multiplicación ilimitada, pérdida progresiva de la diferenciación celular específica), lo que constituiría una limitación más.

Parece posible, como veremos más adelante, vencer estos obstáculos, pero no cabe duda de que la principal objeción formulada contra las vacunas muertas es que confieren una inmunidad de menor duración que la que proporcionan las vacunas vivas. De ahí se deduce la necesidad eventual de una revacunación periódica o de inyecciones de reactivación aplicadas a intervalos que dependerán, a la vez, de la proporción de anti-

cuerpos obtenidos como consecuencia de la primera vacunación y del ritmo de su eliminación.

Cepas vivas atenuadas

El principio de la vacunación por medio de cepas vivas atenuadas tiene en su favor dos argumentos importantes: a) el hecho de que las mejores vacunaciones contra los virus se han logrado hasta ahora con vacunas elaboradas con cepas atenuadas vivas (vacunación antirrábica del hombre con el virus fijo de Pasteur, o del perro con el virus rábico avianizado, vacunación contra la fiebre amarilla con la cepa mutante 17D, etc.); b) el hecho de que este tipo de vacunación reproduciría el proceso natural de inmunización, puesto que el virus atenuado se administraría por vía digestiva, obteniéndose así la inmunización activa por el mismo mecanismo histológico de la inmunización espontánea.

Son numerosos los investigadores que han seguido este camino; más adelante mencionaremos los trabajos más destacados que se conocen actualmente. Cualesquiera que sean los resultados, todavía no se han podido vencer totalmente los dos obstáculos principales: por un lado, si bien es cierto que se han obtenido mutaciones de virus, y en condiciones más que alentadoras, no se ha logrado todavía la mutación simultánea o la atenuación al mismo grado de *cada uno* de los tres tipos antigénicos de virus, por lo que, en el mejor de los casos, los métodos siguen siendo incompletos. Por otro lado, no tenemos todavía pruebas absolutas de que la mutación que ha proporcionado a las cepas experimentales una inocuidad suficiente, es definitiva e irreversible, aunque existen argumentos sólidos para creer que así es.

Debemos tener en consideración, además, que ningún investigador ha podido ensayar aún estas cepas en un número de animales equivalente al de un grupo mínimo de población que, como hemos visto, es necesario para afirmar que el riesgo de accidentes debidos a la vacuna no es superior a los

riesgos de infección por la enfermedad natural. Por último, la administración de un virus vivo por vía digestiva significa que existen grandes probabilidades de que dicho virus modificado se propague espontáneamente entre la población en las mismas condiciones en que se propagaría un virus poliomiélfítico normal por una infección aparente o no. Hay que tener la seguridad, pues, de que la transmisión natural, es decir la transmisión de persona a persona del virus mutante no podrá restituirle, en un momento dado, su virulencia original.

Cepas neutralizadas

Se trata de la *inmunización por un virus activo*, más o menos modificado, administrado por inyección o por ingestión, *bajo la protección de una inmunidad pasiva temporal* obtenida por el empleo de anticuerpos específicos, principalmente de globulina gamma. Es el principio general de las "vacunas sensibilizadas", que conocen bien los veterinarios, pero cuyo empleo va disminuyendo actualmente en medicina animal, después de haber sido abandonado prácticamente en medicina humana, pues las dificultades prácticas de la elaboración del método contrarrestan muchas veces las ventajas teóricas. Cabe preguntar, sin embargo, en el caso de la poliomiélfitis, si la presencia de anticuerpos circulantes durante la fase de inmunización activa no contribuiría a limitar el neurotropismo potencial del virus y a evitar, de esta manera, las consecuencias paráliticas de la infección.

DISCUSION

Todos los métodos hasta ahora propuestos o experimentados proceden de uno de estos tres puntos de partida teóricos. No es posible concebir que de la combinación de dos métodos fundamentales resulte un método práctico: por ejemplo, una inmunización básica mediante vacuna muerta, inyectada, reforzada posteriormente por una vacuna activa ingerida. O bien, una inmunización primaria obtenida por inmunización activa y pasiva combinadas, conservadas después por medio de una vacuna muerta o viva.

Sea cual fuere el método de vacunación que finalmente se adopte sobre una firme base experimental, deberá probarse, por un lado, su inocuidad, y por otro, su eficacia, antes de ensayarlo en el hombre. Ahora bien, esto constituye una demostración suplementaria de las dificultades que existen.

EVALUACION DE LA EFICACIA DE UNA VACUNA

¿Cuáles son, de hecho, los medios de que disponemos para juzgar que un método de vacunación antipoliomiélfítica resulta eficaz en el hombre?

Si nos limitamos a los datos estadísticos, necesitamos, como ya hemos indicado, efectuar la prueba en miles de individuos, lo cual supone la previa solución del problema de la inocuidad. Si queremos obtener pruebas positivas, nos deberemos contentar con los resultados de los experimentos en animales, puesto que, naturalmente, no podríamos inocular un virus patógeno a los vacunados para comprobar su estado de inmunidad.

Los experimentos realizados en monos nos muestran que la administración de una vacuna eficaz (es decir, que determine una inmunidad activa que permita al animal resistir con todo éxito la inoculación de prueba efectuada posteriormente) va acompañada de la aparición en su suero de anticuerpos específicos capaces de neutralizar *in vitro* la cepa o cepas empleadas para la vacunación como las cepas-tipo de cada uno de los tres antigénicos. Parece, pues, que la búsqueda de anticuerpos y la observación del ritmo de aparición podrían servir de medio de control y de medida del estado de inmunidad del individuo vacunado. Es decir, que nos inclinamos a razonar por analogía, según el siguiente silogismo:

a. La vacunación, lo mismo que la infección natural, produce la aparición de anticuerpos en el suero de los individuos vacunados;

b. Ahora bien, los monos que presentan determinado nivel de anticuerpos están protegidos contra la infección poliomiélfítica por vía digestiva, subcutánea, intramuscular e, incluso, intracerebral;

c. Por lo tanto, los sujetos humanos que presenten la misma tasa de anticuerpos que los

monos, como consecuencia de una vacunación por el mismo método, alcanzan el mismo grado de protección que éstos.

Aunque es muy probable que este silogismo responda a la realidad, no podemos afirmar que ninguno de los tres términos se base en hechos definitivamente probados.

Es cierto, en efecto, que la introducción de un antígeno poliomiélfítico en un organismo determina la producción de anticuerpos específicos y, en particular, anticuerpos circulantes en el suero. También es cierto que la repetición de inyecciones de antígeno origina un aumento, proporcional en cierta medida, de la tasa de estos anticuerpos, pero, de todas maneras, no podemos considerar los anticuerpos como medida directa y efectiva del grado de resistencia a la parálisis, la cual sabemos que es una resistencia de orden histológico sobre todo. Lo único que podemos decir es que la resistencia histológica va acompañada de la producción de anticuerpos circulantes y que, en condiciones normales, cuanto más elevada es esta resistencia, más lo es la tasa de anticuerpos circulantes. Sin embargo, numerosos experimentos demuestran, por un lado, que el estado refractario a la infección de la poliomiélfitis, sobre todo en los casos de contaminación por vía digestiva, puede observarse perfectamente, junto con una tasa de anticuerpos muy baja, incluso insignificante, en el suero; por otro lado, aun en el caso de animales que presentan una elevada tasa de anticuerpos, se puede disminuir la resistencia adquirida mediante modificaciones de factores fisiológicos y endocrinos a que nos hemos referido anteriormente. Debemos, pues, pensar que lo mismo ocurra con el hombre, y que su inmunidad, en las diversas circunstancias a que está sometido durante su vida, puede estar sujeta a fluctuaciones de la misma naturaleza que las de los animales de experimentación.

Asimismo, es cierto, en conjunto, que una tasa suficiente de anticuerpos permite proteger al animal contra dosis moderadas de virus introducido por las vías normales. La dificultad empieza cuando se quiere definir

esta dosis suficiente. En el caso del chimpancé, se observa que el animal está generalmente protegido contra la infección por vía digestiva cuando se encuentra en el suero una tasa de anticuerpos de 1:10 o más (para neutralizar de 50 a 100 DP₅₀ de virus); sin embargo, para protegerlo contra la infección por vía intramuscular y más aún por vía cerebral, se requiere una tasa de anticuerpos mucho más elevada. Los cynomolgus (*Macaca irus*) necesitan, muchas veces, una tasa de anticuerpos menor que los chimpancés para estar protegidos contra la infección por vía digestiva, mientras que no es casi posible infectar por vía digestiva al rhesus, que resiste a este tipo de contaminación, posea o no anticuerpos. En los monos de tipo inferior es necesario, pues, utilizar como infección para realizar la prueba de resistencia, no la infección por vía digestiva, sino la efectuada por vía intramuscular o intracerebral, que representa una forma anormal de infección puesto que, en ese caso, el virus entra directamente en contacto con el sistema nervioso o sus terminaciones intramusculares.

En estas condiciones, una tasa de anticuerpos en el suero de 1:32 protege, de un modo regular, al rhesus o al cinocéfaló, contra la infección por vía intramuscular. Normalmente, aunque no siempre, también les protege contra la inoculación por vía intracerebral. Por consiguiente, podemos admitir arbitrariamente que, con respecto al mono, una tasa de 1:32 representa una tasa razonable de anticuerpos, o sea del orden que parece necesario para el control experimental de la eficacia de una vacuna antipoliomiélfítica.

No contamos con bases suficientes para establecer la tasa mínima de anticuerpos que acompaña normalmente a la inmunidad poliomiélfítica del hombre, y que, por consiguiente, convendría obtener a continuación de la vacunación. Los exámenes hechos de convalecientes de poliomiélfitis, en los que cabe suponer que haya surgido una importante inmunidad después de una reciente infección, proporcionan resultados frecuentemente contradictorios, y se observa, por lo

general, una gran variedad de las tasas registradas (Lépine y Pavilanis (44)). De todas formas, los exámenes muestran que estas tasas son, en conjunto, superiores a 1:20; de tal manera que, también por ello, nos inclinamos a admitir que la aparición de una tasa de anticuerpos de 1:32 en los niños corresponde, al parecer, al estado refractario a la infección paralítica.

Cabe recordar una vez más que la vacunación contra la poliomielitis va dirigida, ante todo, contra las consecuencias paralíticas de la infección, más bien que contra la infección propiamente dicha. En efecto; si la infección poliomielítica sólo se manifestara por la enfermedad inaparente, incluso únicamente por las formas no paralíticas de la infección menor, no se plantearía el problema de la vacunación. Por otra parte, la experiencia obtenida en animales muestra que los cynomolgus y los chimpancés que han estado inmunizados contra la poliomielitis y a los que se re infecta por vía bucal, contraen normalmente, como consecuencia de esta contaminación, una infección intestinal, sin síntomas, con eliminación de virus poliomielítico, que dura menos que la primoinfección. Tras esta re infección, se observa un alza de la tasa de los anticuerpos que ya existía por el hecho de la vacunación anterior.

Parece ser, pues, que aunque se lograra establecer en el hombre un nivel de anticuerpos suficiente para prevenir la aparición de la parálisis, no se impedirá necesariamente (lo que tal vez no siempre sería conveniente) la eventualidad de una re infección por vía digestiva, que sería asintomática pero susceptible de ejercer un efecto de reactivación de la inmunidad producida por la vacunación. De todo ello se deduce que el problema de la vacunación con respecto al hombre se presenta en forma distinta, según se trate de una población en la que existan grandes posibilidades de re infección frecuentes y repetidas, o bien de una población que, por sus condiciones higiénicas, por su aislamiento o cualquier otra causa, se encuentra poco expuesta a re infecciones, y en

la que éstas sólo puedan ocurrir al cabo de largos periodos, durante los cuales haya disminuido o desaparecido la inmunidad producida por la vacunación, al no haber estado mantenida por infecciones latentes. Por esta razón, es perfectamente posible que, en el futuro, se observen resultados contradictorios cuando se proceda a ensayos de vacunación de poblaciones diferentes; y que, según las zonas endemoepidémicas en las que los investigadores hayan podido lograr la inmunidad activa por vacunación, puede ocurrir que en un caso se considere sólida y durable, mientras que, en otro, resulte transitoria e insuficiente.

De todas formas, y para tratar de fijar los estándares de comparación entre los distintos métodos de vacunación posibles, parece que la obtención, en el niño o en el adulto vacunado, de una tasa de anticuerpos en el suero de 1:32 representa un objetivo deseable, aún cuando sea probable, sobre todo en poblaciones expuestas a re infecciones, que las tasas inferiores a la mencionada (pero superiores a 1:10) puedan proteger al organismo contra las consecuencias paralíticas de una infección por un virus poliomielítico.

De todo lo ahora expuesto se deduce que el único elemento eficaz para apreciar la inmunización en el hombre se basa en un factor: la aparición de anticuerpos o el alza de su tasa si ya existían, y este factor sólo nos puede proporcionar una indicación, y no una medida exacta, del estado de inmunidad en cuanto resistencia a la infección o a la re infección.

Establecida esta limitación, que tiene importancia, ¿cuáles son, entre los métodos posibles, los que cabe considerar que han rebasado ya la fase puramente experimental?

VACUNACION CON VIRUS MUERTOS

En relación con las vacunas muertas, los estudios más avanzados son indiscutiblemente los realizados por Salk y sus colaboradores en Pittsburgo (61, 64). Las investigaciones de Salk se llevaron a cabo mediante cultivos de cada uno de los tres tipos antigénicos de virus, efectuados en cultivos de

tejido de riñón de mono, inactivándose el virus con formol y administrándolo por vía parenteral en emulsión con un coadyuvante compuesto de una mezcla de Bayol y de Arlancel (un aceite mineral y un emulsivo) cuya eficacia se ha probado en la vacunación antigripal realizada anteriormente por el mismo autor.

Sabin, que ha analizado los resultados de Salk en un trabajo de conjunto (57), considera que se carece todavía de datos fundamentales para juzgar la cantidad de virus inactivado que se necesita para producir un nivel suficiente de anticuerpos y que se ignora la duración de la inmunidad obtenida de esta forma. Por otro lado, cabe preguntar si, en el caso de que la inmunidad fuese de corta duración, no habría posibilidad de reforzarla, mediante una segunda aplicación por un método de vacunación mediante un virus activo. Cox (12), por otra parte, ha formulado críticas cuyo contenido esencial resumiremos más adelante.

Experimentalmente, a través de sus numerosos ensayos practicados en monos, Salk ha proporcionado pruebas suficientes de la eficacia de su método de vacunación. Pero, llegado el momento de su aplicación práctica, la comisión encargada de los ensayos de vacunación en los Estados Unidos puso en duda la inocuidad de la vacuna, basándose en los siguientes argumentos: a) la posible presencia de células renales de origen símico en la vacuna. Parece ser que el método de filtración utilizado basta para eliminar a estas últimas como tales células. Pero ignoramos en qué medida han conservado su especificidad zoológica los componentes celulares que probablemente se encuentran presentes en la fase líquida del medio de que se compone la vacuna; b) la inactivación del virus con formol. Se ha establecido, al parecer, que en los primeros ensayos efectuados en monos, la vacuna de Salk contenía todavía virus en estado activo y que esta fracción activa puede haber sido la causa de la inmunización de los animales. En razón de la posibilidad de que existan en el medio de cultivo otros virus aportados por las células

animales (especialmente, el virus denominado B, muy frecuente en el mono rhesus y sumamente patógeno para el hombre), se decidió aumentar al doble la cantidad de formol que, en principio, se había previsto para la vacuna, y reforzar las pruebas de inactivación del virus; c) el empleo de coadyuvante a base de aceites minerales provocó una fuerte crítica que, no por el hecho de ser teórica, es menos grave. La inyección de aceites de esta naturaleza en el hombre podría acarrear el riesgo de una acción carcinógena a largo plazo. Si bien no se ha podido demostrar por inoculación en animales la presencia de principios cancerígenos—que se sabe que existen en ciertos hidrocarburos—en los aceites sumamente refinados empleados por Salk, el argumento se consideró suficientemente sólido para que la comisión rechazara el empleo de dichos coadyuvantes en el curso de las primeras pruebas de aplicación al hombre.

La vacuna de nueva fórmula empleada por Salk en 1954 parece responder a todas estas objeciones. En efecto:

a) El primitivo método de cultivo en fragmentos de órganos en suspensión en el líquido nutritivo (método de Enders, derivado del de Maitland y Maitland), fué substituído por el de cultivo en capas monocelulares de células sensibles tripsinadas, de acuerdo con el procedimiento de Dulbecco (14). En consecuencia, la cantidad de células puestas en juego por el cultivo es extremadamente pequeña en comparación con la del método primitivo; de esta forma se obtienen tasas más elevadas, partiendo de pesos menores de material celular, de tal manera que, finalmente, el contenido en proteínas extrañas de la vacuna parece ser inferior a la tasa mínima que determina fenómenos de sensibilización.

b) La misma razón permitió suprimir el empleo de coadyuvantes, y la actual vacuna de Salk se compone únicamente de virus inactivado en suspensión en un medio de cultivo filtrado.

c) La inactivación mediante formol fué minuciosamente estudiada por Salk *et al.*

(63) al mismo tiempo que se aumentó la dosis de formol de 1 por 8.000 a 1 por 4.000. Las curvas de inactivación controladas en el curso de la preparación de la vacuna presentan un declive suficientemente regular para que se pueda determinar con anticipación el punto en que existe una probabilidad suficiente de que todas las partículas de virus hayan quedado inactivadas, de forma que pueda considerarse que la vacuna está libre de toda nocividad mediante el examen de una parte alícuota de la preparación.

La vacuna de Salk se inyectará, en 1954, a un número de niños que, en un principio, se fijó en 500.000, pero que luego se aumentó a un millón. Si bien se trata de una vacuna notablemente distinta de la que fué objeto de los primeros trabajos experimentales que Salk dió a conocer en 1953, parece que las modificaciones que se han aplicado representan, realmente, indudables mejoras. En todo caso, hay que esperar a los resultados del experimento norteamericano antes de determinar definitivamente su valor.

Otras vacunas muertas, preparadas según el mismo principio general que la de Salk, son objeto de minuciosa experimentación antes de probarlas en el ser humano. En Suecia, donde la legislación permite la obtención de embriones humanos en número suficiente para aplicaciones prácticas, Gard y sus colaboradores preparan una vacuna de cultivo muerto, de titulación elevada, que parece salvar ciertas objeciones formuladas contra otras vacunas.

En Canadá, el equipo de los Laboratorios Connaught de Toronto, bajo la dirección de L. N. Farrell (18), ha emprendido la fabricación en gran escala de una vacuna de tipo Salk mediante una técnica simplificada y utilizando un medio de cultivo sintético derivado del medio 199 de Morgan, Morton y Parker (49), cuyo empleo se ha generalizado. En el Instituto Pasteur (Lépine (40)), se emplea un método que permite un cálculo exacto del rendimiento en virus en comparación con el número de células que sirven de apoyo al cultivo y la extracción del virus se facilita por la precipitación de las proteínas.

Asimismo, en Africa del Sur, Gear prepara una vacuna de cultivo inactivado, y poco a poco, los institutos especializados en estudios del virus producen vacunas en mayor o menor escala.

VACUNACION CON VIRUS MUTANTE AVIRULENTO

El segundo método, o sea el de la obtención de cepas avirulentas, pero inmunizantes, representa la tendencia primitiva de la mayoría de los investigadores. Tiene la ventaja de que trata de reproducir, mediante la administración oral de un virus activo pero no paratológico, el mecanismo de la inmunidad espontánea tal como se produce en condiciones naturales.

Así pues, el capítulo de las vacunas a base de virus mutante, modificados o adaptados, abierto desde hace tiempo, dista mucho de estar cerrado. Cabe esperar mucho en este respecto, pero el mismo hecho de que se trata por principio, de virus activos, hace que la experimentación sea más larga, y prolonga, a la vez, la fase de prueba, antes de proceder a los ensayos de aplicación en el hombre.

Enders, Weller y Robbins (15) observaron que un virus del tipo 1 (cepa Brunhilda), conservado en cultivo de tejido sobre células humanas de origen no nervioso, perdía, después de pases en serie, su capacidad de producir parálisis al mono, aun cuando se le inoculase por vía intracerebral. Al llegar a este punto de su evolución, esta cepa no es paratológica ni inmunógena para el mono cynomolgus, pero, como observó Sabin (57) en 1953, administrada por vía oral, puede inmunizar al chimpancé contra cepas virulentas, aunque no sea capaz de paralizarle, incluso después de la inoculación intracerebral. Sin embargo, después del cultivo en riñón de mono, la cepa puede recuperar eventualmente su patogenicidad para los monos de tipo inferior y por vía intracerebral. Esta posibilidad de "un salto atrás" constituye, en la actualidad, la dificultad más grave para utilizar el método en el hombre, tanto si se trata de una verdadera vuelta a la virulencia, o bien (lo que parece

más probable) de una selección de partículas virulentas que persisten en una "población" de partículas atenuadas.

Sabin, Hennesen y Winsser (59) han empleado los pases rápidos en cultivos de tejido de monos cynomolgus para obtener cepas avirulentas de los tres tipos de virus, y Sabin (58) considera que las agrupaciones de virus desprovistos, por adaptación, de poder citopatógeno *in vitro* constituyen un medio de seleccionar las cepas que podrían destinarse a una aplicación práctica.

Por otro lado, Li y Schaeffer (46) obtuvieron una variante de la cepa Mahoney del tipo 1 en ratones, la cual, aplicada después al mono, perdió todo su poder patógeno, pero conservó su poder inmunógeno. Los mismos autores, juntamente con Nelson (47) consiguieron la multiplicación del virus poliomiélfítico en tejido renal de mono injertado en la corioalantoide de huevo, con modificación del poder patógeno.

Koprowski, Jervis y Norton (37) han adaptado una cepa del tipo 2 al sigmodonte recién nacido y le hicieron perder progresivamente su poder patógeno. Administrada por vía oral a un pequeño grupo de niños, produjo en la mayoría de ellos la aparición de anticuerpos específicos de las cepas del tipo 2, sin ocasionar ningún accidente. Dichos autores, junto con Nelson (38), prosiguen sus ensayos en condiciones que parecen ser muy alentadoras, y disponen actualmente de virus de los tipos 1 y 2, que se pueden utilizar por vía digestiva.

Moyer, Accorti y Cox (50) adaptaron la cepa MEF1 del tipo 2 al hámster y han conseguido, al igual que Koprowski, la pérdida del poder paralizante de dicha cepa. Han probado que en el animal, el rhesus y el chimpancé, este virus tiene la aptitud de producir una inmunidad activa sin riesgo aparente de poliomiélfitis. Pero también en estos casos se trata únicamente del virus de tipo 2, el menos extendido en el hombre, y que había sido escogido por la facilidad que le caracteriza de adaptarse a los roedores.

Roca-García, Moyer y Cox (56), Cabasso *et al.* (10), partiendo del pase en hámster

número 131 de la cepa de Roca-García han logrado adaptar esta última al embrión de pollo y obtener regularmente su cultivo en huevo de gallina fecundada. Más recientemente, Cabasso ha conseguido, de la misma manera y por el mismo medio, la adaptación al huevo de una cepa del tipo 1, lo que constituye un importante progreso y permite confiar que de este modo se puedan obtener, en huevo de gallina, cepas inmunizadoras desprovistas de todo poder paralizante como ya se ha logrado con respecto al virus rábico (cepa Flury), el virus amarílico (cepa 17 D) y numerosos virus patógenos de los animales.

En Marruecos, Blanc y Martin (3) han hecho experimentos con un virus obtenido por inyección de material poliomiélfítico virulento al conejo. De esta manera, han aislado un virus que mata al conejo y produce los síntomas de una enfermedad febril y septicémica (dilatación del bazo, sin lesiones del sistema nervioso, sin parálisis) y que se conserva indefinidamente en el ratón en forma inaparente. Este virus, que en el mono mostró estar desprovisto de todo poder patógeno, se administró por vía bucal a individuos voluntarios y se observó la misma inocuidad. Considerando que se trata de un virus poliomiélfítico atenuado, Blanc y Martin han emprendido una campaña de inmunización del hombre mediante la administración oral del virus vivo en forma de una emulsión de bazo y sangre de conejo infectado con ese virus. Los resultados que se conocen confirman la inocuidad, al parecer cierta, del virus. Resulta más difícil determinar su valor inmunizante. Los experimentos llevados a cabo en el Instituto Pasteur con el virus original que Blanc y Martin tuvieron a bien enviarnos en junio de 1953, y que duraron varios meses, han resultado bastante desalentadores. El virus marroquí no produce, en cultivo *in vitro*, las lesiones características del virus poliomiélfítico y no ha sido neutralizado, en nuestros experimentos, por ninguno de los sueros específicos de los tres tipos de poliomiélfitis. Cuando se administra a los monos, se muestra inofensivo, cualquiera que sea la dosis y

la vía de introducción, pero no hace aparecer anticuerpos en el animal ni ha producido, en nuestros ensayos, ninguna resistencia a la inoculación de prueba, sucumbiendo en el mismo plazo los monos vacunados que los testigos. Creemos que este virus, cuyas características son muy distintas de las del virus poliomiélfítico (ausencia de poder citopatógeno, no resistencia a la glicerina, difusión por vía sanguínea), es más bien un virus parásito de los roedores que un verdadero virus poliomiélfítico atenuado.

VACUNACION CON VIRUS ACTIVO NEUTRALIZADO

El tercer método, es decir, el empleo de virus activo, adaptado o no, junto con una inmunización pasiva, procede de numerosísimas observaciones experimentales efectuadas desde los primeros ensayos de Flexner y Lewis (19), siendo las más recientes las de Rhodes y Clark (55), Bodian (5, 6) y Hammon *et al.* (24). Cierta número de ensayos comprenden la inyección de una mezcla virulenta neutralizada por el suero, Sabin (57) considera que esta práctica, en principio, es ineficaz si hay exceso de anticuerpos, o peligrosa si se observa exceso de virus, y que, en cualquier caso, expone al riesgo de una disociación de la mezcla neutralizada. Otros ensayos comprenden la administración separada, pero concomitante, de anticuerpos, por un lado en inyección, y por otro de virus activo en ingestión. Este es el método que más se acerca a la inmunización espontánea obtenida en el 95 % de los sujetos en condiciones naturales. Sin embargo, es evidente que si se emplea un virus activo no modificado, el riesgo que se corre es tan grande como el que presentan las posibilidades de contaminación natural, y que si se utiliza un virus suficientemente adaptado al animal para que, con toda seguridad, no sea paratígeno para el hombre, es difícil apreciar actualmente el verdadero grado de protección que el método confiere.

Conviene señalar, también, que el empleo simultáneo de la protección pasiva y de la inmunización activa puede dar lugar a que

se retrase, en comparación con los testigos, el momento en que se produce la inmunidad, cosa que hay que tener presente cuando se aplique la vacuna, como ocurrirá generalmente en un medio infectado, es decir, en una población expuesta al riesgo de la infección natural. En efecto; basándose en las observaciones, todavía inéditas en parte, efectuadas durante el experimento de aplicación de globulina gamma en los Estados Unidos, en 1953, se tuvo la idea de comparar las tasas de anticuerpos observadas al cabo de varios meses en los individuos que habían recibido la globulina gamma y en los que, no habiendo recibido la inyección, se consideraban como testigos que vivían en un medio infectado. Teniendo en cuenta que el examen tuvo lugar al cabo de varios meses y que, como se sabe, la globulina inyectada fué prácticamente eliminada después de ocho semanas, los anticuerpos que se midieron correspondían a los anticuerpos naturalmente adquiridos por unos y otros individuos en el curso de la epidemia y como consecuencia de la contaminación espontánea a que habían estado expuestos.

Ahora bien; se halló que, en conjunto, las tasas de anticuerpos observadas en los testigos fueron más elevadas que las de los que habían recibido la globulina gamma. En realidad, estos últimos habían estado parcialmente protegidos contra la infección y habían reaccionado menos al estímulo antigénico de la infección natural. En estas condiciones, es posible que la vacunación mediante una mezcla de anticuerpos y de antígeno o por la inyección simultánea, pero en puntos distintos, si bien resulte eficaz, requiera un período más largo para producir la inmunidad que la vacunación por métodos que emplean sólo la inyección de antígeno.

CONCLUSIONES

¿Cuáles son, en la fase actual de las investigaciones, las perspectivas de una vacunación contra la poliomiélfitis?

Parece haberse resuelto un primer punto: los métodos más recientes de cultivo del virus poliomiélfítico en cultivos de tejidos

sensibles no nerviosos, ponen a nuestra disposición preparados de vacuna suficientemente ricos en antígeno y suficientemente purificados para que sean aplicables a la vacunación del hombre. Estos últimos determinan la aparición de anticuerpos en el hombre, dentro de cierto período, en una proporción equivalente a los que, en los animales, confieren una protección segura contra las consecuencias parálíticas de una infección poliomiélfica.

Cabe esperar, pues, que estas vacunas proporcionen al niño y al adulto una tasa de protección estadísticamente significativa contra la parálisis poliomiélfica. Las vacunas de este tipo pueden prepararse inmediatamente y parece ser que, dentro de poco tiempo, se pondrán a disposición del cuerpo médico en las distintas partes del mundo.

Es posible, aunque todavía no se tiene la seguridad, que estas vacunas resuelvan definitivamente el problema. Del mismo modo que ignoramos todavía cuál es la tasa efectiva de protección que recibirá el hombre, no sabemos tampoco, por falta de bastantes antecedentes, cuánto dura la persistencia de anticuerpos en el suero, la única medida de la tasa de inmunidad de que disponemos. Es posible—y tratándose de vacunas muertas parece, incluso, probable—que sean necesarias revacunaciones o inyecciones de reactivación. En estas circunstancias, cabe preguntar si una vacunación primaria mediante vacuna inactivada—secundada por una revacunación posterior por medio de cepas vivas de los tres tipos de virus poliomiélfico suficientemente atenuadas para considerar que se ha eliminado prácticamente su poder paralizante,—no proporcionaría la mejor solución al asegurar un efecto de reactivación inmunizante por la respuesta del organismo a un virus activo. Esta perspectiva nos parece muy halagüeña, pero hay que reconocer que, hoy por hoy, no tenemos todavía una experiencia suficientemente prolongada de las cepas atenuadas del virus poliomiélfico, ni suficiente garantía de su estabilidad para proceder a aplicaciones en gran escala.

Considerada desde el punto de vista prác-

tico, creemos que la vacunación contra la poliomiélfitis es una medida que se debe aplicar, de preferencia durante el primer año de vida del individuo, después del sexto mes, momento en que el niño pierde los anticuerpos maternos de origen placentario, y antes del duodécimo mes, puesto que, aún ahora, el grupo de edad que presenta una frecuencia más elevada de poliomiélfitis parálítica es el de uno a tres años. Esta primera vacunación debiera efectuarse mediante un virus muerto, de forma que produjera, sin riesgo alguno, la inmunidad básica necesaria para hacer aparecer en el suero del niño los primeros anticuerpos contra los tres tipos de virus. Ahora bien, una vez obtenida esta inmunidad básica ¿hay que dejar que actúe la naturaleza?, o bien ¿habrá que reforzarla con inyecciones de reactivación o completarla mediante la inmunización por un virus vivo atenuado? El futuro nos dará la respuesta. Por otro lado, esta respuesta puede ser diferente según las distintas regiones del mundo. Cabe concebir que, en los países en que las condiciones higiénicas siguen siendo primitivas y en donde son frecuentes las infecciones naturales, las probabilidades de reinfecciones por un virus natural sean suficientes para mantener la inmunidad básica obtenida mediante la primera vacunación. De todas maneras, creemos que es más prudente no confiar en el azar y procurar que se mantenga la inmunidad obtenida. En los países en que las reinfecciones naturales son menos frecuentes debido al mejoramiento de la higiene, habrá que obtener, en todo caso, un efecto de reactivación, bien sea por reinyección de virus muerto o por administración de virus vivo atenuado.

En conclusión, consideramos que la situación en presencia de la infección poliomiélfica es bastante similar a la de la inmunización antidiftérica. Así como la vacunación por la anatoxina evita las consecuencias parálíticas de la intoxicación diftérica, pero no siempre basta para impedir que se produzca el estado de portador de gérmenes, así también la simple vacunación no parece que sea suficiente para disminuir los riesgos de infección por virus poliomiélfico si el mejora-

miento de la higiene no contribuye a ello. Del mismo modo que en los países en que la infección diftérica es rara debido al alto nivel de higiene y, en consecuencia, hay que mantener, con inyecciones de reactivación, la inmunidad engendrada por la vacuna, igualmente en las regiones que gozan de buenas condiciones higiénicas y en que las probabilidades de infección espontánea por el virus de la poliomielitis son pocas, habrá que mantener o reforzar mediante inyecciones de reactivación la inmunidad antipoliomielítica obtenida por la vacunación.

Es posible que cuando comience la vacunación en gran escala contra la poliomielitis, los primeros en beneficiarse sean los individuos desprovistos de anticuerpos contra cualquiera de los tres tipos de virus poliomiélfítico, es decir, los sujetos que no presenten pruebas de un contacto anterior con el virus y en los cuales tiene un interés primordial, por este mismo hecho, el desarrollo de una inmunidad básica. Pero es evidente que,

a medida que se disponga de mayores cantidades de vacuna, será más conveniente, con el fin de proteger a una población entera, vacunar indistintamente tanto a los individuos que no tengan anticuerpos como a los que los posean ya. Sabemos, efectivamente, según los estudios de Salk *et al* (62) que la vacunación de los individuos que ya presentan cierto nivel de anticuerpos da lugar a un aumento rápido hasta un nivel muy elevado de los anticuerpos ya existentes, resultado que se obtiene, según parece, sin ninguna reacción aparente del organismo.

Ha llegado el momento, pues, en que cabe pensar que muy pronto se pondrá en práctica la vacunación antipoliomiélfítica, y que ejercerá, en la frecuencia de la enfermedad parálítica, una influencia comparable a la que la vacunación por la anatoxina diftérica ha ejercido en la epidemiología de esta afección. Esta esperanza, que parecía utópica hace dos años, está justificada hoy en día, por lo menos en el plan experimental.

REFERENCIAS

- (1) Barski, G.; Lépine, P.; Monaci, V., y De Brion, G.: *Ann. Inst. Pasteur*, 84:825, 1953.
- (2) Bingel, K. F., y Engelhardt, H.: *Medizinische*, No. 23, 823, 1954.
- (3) Blanc, G., y Martin, L. A.: *Bull. Acad. Méd.*, Paris, 137:230, 1953.
- (4) Bodian, D.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 72:259, 1949.
- (5) Bodian, D.: *Am. Jour. Hyg.*, 54:132, 1951.
- (6) Bodian, D.: *Am. Jour. Hyg.*, 56:78, 1952.
- (7) Boyd, T. E.: *Bact. Rev.*, 17, Suplemento de diciembre, 1953.
- (8) Brown, G. C.: *Jour. Immunol.*, 69:441, 1952.
- (9) Brown, G. C., y Ackermann, W. W.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 77:367, 1951.
- (10) Cabasso, V. J.; Stebbins, M. R.; Dutcher, R. M.; Moyer, A. W., y Cox, H. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 81:525, 1952.
- (11) Cochran, K. W. *et al.*: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 85:104, 1954.
- (12) Cox, H.: *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 29:943, 1953.
- (13) Davide, H.: *Bull. Off. Int. Hyg. Publ.*, 20:74, 1928.
- (14) Dulbecco, R., y Vogt, M.: *Jour. Exp. Med.*, 99:167, 1954.
- (15) Enders, J. F.; Weller, T. H., y Robbins, F. C.: *Fed. Proc.*, 11:467, 1952.
- (16) Faber, H., y Dong, L.: *Am. Jour. Dis. Child.*, 86:469, 1953.
- (17) Faber, H. K., y Dong, L.: *Pediatrics*, 12:657, 1953.
- (18) Farrell, L. N.; Wood, W.; Franklin, A. E.; Shimada, F. T.; Macmorine, H. J., y Rhodes, A. J.: *Canad. Jour. Publ. Hlth*, 44:273, 1953.
- (19) Flexner, S., y Lewis, P. A.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 54:1780, 1910.
- (20) Francis, T., jr.; Brown, G. C., y Kandel, A.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 85:83, 1954.
- (21) Gershoff, S. N.; Rasmussen, A. F., jr.; Elvehjem, C. A., y Clark, P. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 81:484, 1952.
- (22) Hammon, W. McD.: *Pediatrics*, 6:696, 1950.
- (23) Hammon, W. McD.: *Am. Jour. Med. Sci.*, 226:125, 1953.
- (24) Hammon, W. McD.; Cheever, F. S., y Sather, G. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 80:150, 1952.
- (25) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L., y Stokes, J., jr.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:739, 1952.
- (26) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L., y Stokes, J., jr.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:750, 1952.
- (27) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L.; Wehrle, P. F.; Klimt, C. R., y Stokes, J., jr.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 150:757, 1952.
- (28) Hammon, W. McD.; Coriell, L. L.; Wehrle,

- P. F., y Stokes, J., jr.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 151:1272, 1953.
- (29) Hammon, W. McD., et al: *Jour. Am. Med. Assn.*, 156:21, 1954.
- (30) Harmon, P. H.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 109:1061, 1937.
- (31) Hemmes, G. D.: Comunicación a la décimo-segunda reunión del Comité de Salud Pública de la Organización del Tratado de Bruselas, Burdeos, 1953.
- (32) Hornus, G.: *La périodicité saisonnière des maladies épidémiques et en particulier de la poliomyélite*, Tesis de París.
- (33) Jungeblut, C. W.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 77:176, 1951.
- (34) Klarenbeek, A.: Antonie v. Leeuwenhoek, 17:237, 1951.
- (35) Klarenbeek, A., y Tongeren, H. A. van: *Ned. T. Genesk.*, 98:768, 1954.
- (36) Kotaoka, M.; Miura, T., y Hori, K.: *Jap. Jour. Med. Sci. Biol.*, 6:475, 1953.
- (37) Koprowski, H., Jervis, G. A., y Norton, T. W.: *Am. Jour. Hyg.*, 55:108, 1952.
- (38) Koprowski, H., Jervis, G. A.; Norton, T. W., y Nelson, D. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 82:277, 1953.
- (39) Lépine, P.: *Rev. Immunol.*, 1:480, 1935.
- (40) Lépine, P.: *C. R. Acad. Sci.*, París, 239:1555, 1954.
- (41) Lépine, P.; Barski, G.; Endo, M., y Blusson, J.: *C. R. Acad. Med.*, París, 138:50, 1954.
- (42) Lépine, P., y Levaditi, J. C.: *Bull. Acad. Med.*, París, 127:526, 1943.
- (43) Lépine, P.; Nantel, A., y Reinié, L.: *Action sur le virus poliomyélique (souche Lansing) du venin de Vipera russellii*. Citado en el Quinto Congreso Internacional de Microbiología, Río de Janeiro, 17-24 de agosto de 1950, resumido del trabajo, Río de Janeiro, pág. 100, 1950.
- (44) Lépine, P., y Pavilanis, V.: *Ann. Inst. Pasteur*, 82:145, 1952.
- (45) Levaditi, C.: *C. R. Soc. Biol.*, París, 75:202, 1913.
- (46) Li, C. P., y Schaeffer, M.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 82:477, 1953.
- (47) Li, C. P.; Schaeffer, M., y Nelson, D. B.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 87:153, 1954.
- (48) Makarova, K. M., y Rumiantsera-Russtikh, M. V.: *Z. Neuropat. i Psikiat.*, 54:189, 1954.
- (49) Morgan, J. F.; Morton, H. J., y Parker, R. C.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 73:1, 1950.
- (50) Moyer, A. W.; Accorti, C., y Cox, H.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 81:513, 1952.
- (51) Netter, A., y Levaditi, C.: *C. R. Soc. Biol.*, París, 68-617, 1910.
- (52) Niggemeyer, H.: *Arch. Kinderheilk.*, 147:170, 1953.
- (53) Pait, C. F.; Kokko, U. P., y Kessel, J. F.: *Am. Jour. Hyg.*, 58:65, 1953.
- (54) Rasmussen, A. F., jr.; Weaver, R. W.; Elvehjem, C. A., y Clark, P. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 84:306, 1953.
- (55) Rhodes, A. J., y Clark, E. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 76:379, 1951.
- (56) Roca-García, M.; Moyer, A. W., y Cox, H. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 81:519, 1952.
- (57) Sabin, A. B.: *Am. Jour. Dis. Child.*, 86:301, 1953.
- (58) Sabin, A. B.: *Science*, 120:357, 1954.
- (59) Sabin, A. B.; Hennessen, W. A., y Winsser, J.: *Jour. Exp. Med.*, 99:551, 1954.
- (60) Sabin, A. B., y Olitsky, P. K.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 34:357, 1936.
- (61) Salk, J. E.: *Jour. Am. Med. Assn.*, 151:1081, 1953.
- (62) Salk, J. E.; Bazeley, P. L.; Bennett, B. L.; Krech, U.; Lewis, L. J.; Ward, E. N., y Youngner, J. S.: *Am. Jour. Publ. Hlth.*, 44:994, 1954.
- (63) Salk, J. E.; Krech, U.; Youngner, J. S.; Bennett, B. L.; Lewis, L. J., y Bazeley, P. L.: *Am. Jour. Publ. Hlth.*, 44:563, 1954.
- (64) Salk, J. E.; Lewis, L. J.; Bennett, B. L., y Youngner, J. S.: *Fed. Proc.*, 11:480, 1952.
- (65) Sander, M.; Akin, B. A., y Soret, M. G.: *Acta neuroveg.* (Wien), 8:362, 1954.
- (66) Schnitzer, R. J.; Buck, M., y Steiger, N.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 77:182, 1951.
- (67) Schultz, E. W., y Gebhardt, L. P.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 30:1010, 1933.
- (68) Schultz, E. W., y Gebhardt, L. P.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 31:728, 1933.
- (69) Shope, R. E.: *Jour. Exp. Med.*, 97:601, 1953.
- (70) Syverton, J. T.; Scherer, W. F., y Butorac, G.: *Proc. Soc. Exp. Biol.*, Nueva York, 77:23, 1951.
- (71) Toomey, J. A.: *Science*, 82:200, 1935.
- (72) Ueda et al: *Pharm. Bull.*, 1:379, 1953.
- (73) United States National Foundation for Infantile Paralysis, Committee on Typing, et al: *Immunologic classification of poliomyelitis viruses*. En: *Poliomyelitis, papers and discussions presented at the Second International Poliomyelitis Conference*, Copenhagen, 1951, Filadelfia, pág. 419, 1952.
- (74) United States Public Health Service, Bureau of State Services: *Pub. Health Rep.*, Washington, 69:519, 1954.
- (75) United States Public Health Service, National Advisory Committee for the Evaluation of Gamma Globulin: *Jour. Am. Med. Assn.*, 154:1086, 1954.
- (76) Youngner, J. S.; Ward, E. N., y Salk, J. E.: *Am. Jour. Hyg.*, 55:291-301, 1952.