

INMUNIZACION CONTRA EL TRACOMA ¹

Dr. J. Thomas Grayston ²

El tracoma es una enfermedad superficial de tipo crónico, recidivante y prolongado. Excepto en casos de curación espontánea eventual, hay pocas manifestaciones de inmunidad natural. No obstante estos hechos desalentadores, estudios de diversos autores han mostrado que la infección por tracoma en seres humanos y en primates puede prevenirse mediante la inmunización.

Aunque, hasta la fecha, sólo ha sido posible estudiar el microorganismo causante del tracoma por unos diez años, se han realizado progresos considerables hacia un mejor conocimiento de la inmunología de la enfermedad y del desarrollo de la prevención mediante la inmunización. El agente del tracoma es un miembro del grupo Bedsonia, microorganismos intracelulares parásitos que poseen membranas celulares y métodos de reproducción similares a los de las bacterias (18). No se han obtenido métodos satisfactorios de inmunización contra otras Bedsonias.

Collier (9) revisó recientemente toda la literatura relativa a estudios sobre vacunas contra el tracoma realizados hasta el momento en diversos laboratorios en el mundo,

¹Trabajo presentado en la Primera Conferencia Internacional sobre Vacunas contra las Enfermedades Producidas en el Hombre por Virus y Rickettsias, organizada por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud, y celebrada en Washington, D.C., del 7 al 11 de noviembre de 1966.

El texto original en inglés se ha incluido en la colección de trabajos de la Conferencia, titulada Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases (Publicación Científica de la OPS 147, págs. 546-559, 1967).

Los estudios examinados fueron sostenidos mediante un subsidio para investigaciones (NB-03144) del Instituto Nacional de Enfermedades Neurológicas y Ceguera, Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos. Algunos de ellos se realizaron en colaboración con la Unidad No. 2 de Investigaciones Médicas Navales de los Estados Unidos en Taipei, Taiwán, y fueron sostenidos en parte por la Oficina de Medicina y Cirugía de la Armada de los Estados Unidos; otros fueron sostenidos parcialmente por el subsidio de adiestramiento (TI-AI-206) del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas, Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos.

²Departamento de Medicina Preventiva, Escuela de Medicina de la Universidad de Washington, Seattle, Washington, E.U.A.

por lo que más bien corresponde tratar sobre algunos de los adelantos importantes en el conocimiento de la inmunología del tracoma, los acontecimientos en curso y problemas de prevención mediante la inmunización. Se toman ejemplos, principalmente de los trabajos publicados por colegas del autor y por este mismo, y se utiliza la información más reciente, presentada en un Simposio Internacional de la OMS sobre el Tracoma, celebrado en California en agosto de 1966.³

Desarrollo del microorganismo del tracoma

Hasta ahora, el agente del tracoma a títulos altos sólo se ha obtenido por cultivo en el saco vitelino de huevos de pollo embrionados; de ahí que las vacunas que van a examinarse se obtuvieran en su totalidad de material inicial del saco vitelino. Aunque pueden desarrollarse cepas del germen del tracoma en cultivo celular de células heteroploides, no se produce material de alta titulación. Además, no existen datos que indiquen que los cultivos celulares aceptables para la producción de la vacuna humana producirán jamás microorganismos del tracoma en títulos altos. La mejor esperanza de obtener un nuevo material distinto del saco vitelino para el cultivo del tracoma parecería ser un medio sin células vivas. Algunos estudios, especialmente los de Moulder y sus colaboradores

³Amer J Ophthal No. 5, Parte II, págs. 1027-1657, mayo 1967.

(19), encaminados a conocer mejor el metabolismo de las bedsonias, tal vez conduzcan algún día a obtener ese medio.

La evaluación de agentes del tracoma a un título infeccioso puede realizarse con precisión razonable en el saco vitelino de huevos. El ensayo en huevo con EID₅₀ (la dosis infectante media en huevo) es preferible al el LD₅₀ (la dosis letal media en huevo) y muestra buena capacidad de repetición con una variación de 0.3 log₁₀ (31).

Purificación de los microorganismos del tracoma procedentes del saco vitelino

En la preparación de vacunas se ha empleado una serie de métodos diferentes para la purificación del agente del tracoma procedente del saco vitelino: 1) Collier (8) ha empleado sólo la centrifugación diferencial a velocidades altas y bajas. 2) Bell y sus colaboradores (4) han empleado la centrifugación diferencial, el tratamiento celítico y la extracción por éter. 3) Wang y Grayston han empleado el tratamiento con tripsina del saco vitelino crudo y la sonización, aislada o conjuntamente, seguido de centrifugación diferencial y de purificación ulterior por cuatro métodos principales (32). 4) Woolridge y Grayston trataron sus primeras preparaciones de vacunas con polimixina (PEB), que precipitó algunas de las impurezas del huevo y aumentó el título antigénico de fijación del complemento (37); comparadas con vacunas ulteriores, esas preparaciones no fueron de pureza muy alta y tenían una masa antigénica relativamente baja. 5) Más recientemente se ha empleado la separación cromatográfica en columna de Sephadex dietilaminoetilénica como tiempo final de la purificación: las suspensiones pasadas por esas columnas resultan altamente purificadas, pero dan un rendimiento relativamente escaso de cuerpos elementales; no se afecta la viabilidad del microorganismo. 6) Para la purificación se ha empleado también en genetrón, un fluorocarbono, y se han preparado cuerpos elementales altamente

purificados (figura 1): este método de purificación es relativamente fácil y produce un alto rendimiento de microorganismos; inactiva al microorganismo y su efecto sobre la antigenicidad es objeto de los experimentos consignados más adelante. 7) Finalmente, se ha empleado la centrifugación gradual según la densidad de la sacarosa en un gradiente continuo de 0 a 40 por ciento: con este método los microorganismos conservan su viabilidad y también se obtiene un alto rendimiento; es considerablemente más difícil preparar vacunas en gradientes de sacarosa que por extracción con genetrón.

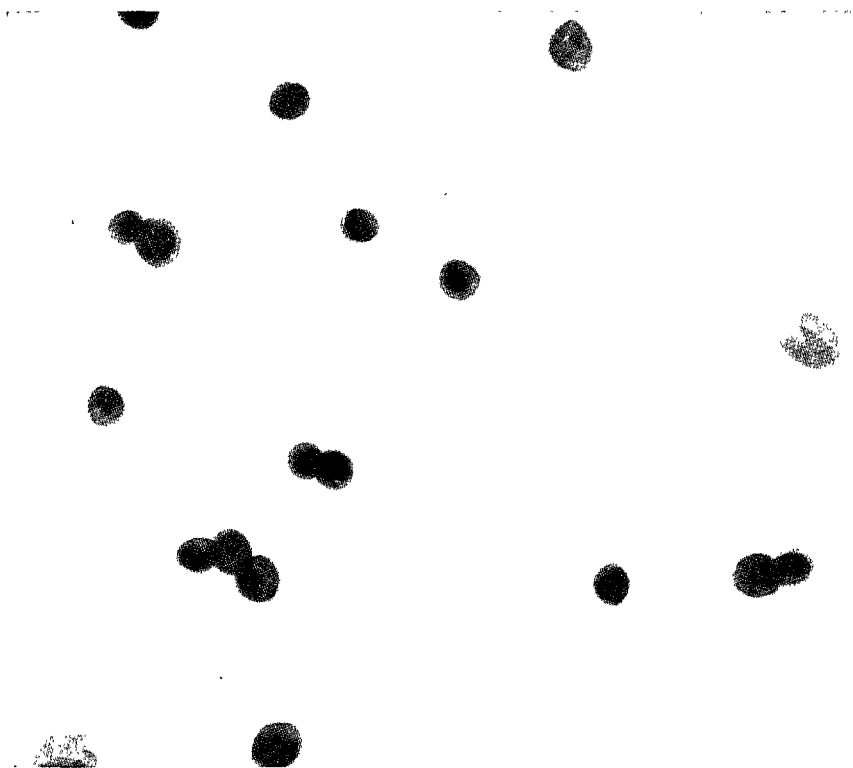
En estudios sobre seres humanos y primates se han empleado suspensiones de microorganismos purificados del tracoma preparados por los diversos métodos mencionados. Por lo general, las suspensiones se han inactivado con formalina, aunque Collier ha empleado microorganismos vivos en sus estudios (9). Las vacunas o bien han sido suspensiones acuosas, o se han mezclado con alumbre o emulsificado con un adyuvante de aceite mineral.

Mediciones de la potencia de la vacuna

En los estudios iniciales las mediciones de potencia de la vacuna eran poco precisas y dependían de la concentración del saco vitelino por peso o titulación del huevo antes de la inactivación. Se ha mostrado que la capacidad de una vacuna para provocar una respuesta de fijación del complemento con anticuerpos tiene escasa relación con sus propiedades inmunizantes. Más recientemente, se han ideado métodos para contar el número de cuerpos elementales en una suspensión, sea con el microscopio electrónico (32), o mediante la microscopía en campo oscuro (24). Esas cuentas se han podido repetir y parecen tener relación con la potencia (34).

Wang y Grayston han elaborado un método para determinar la potencia de una vacuna midiendo su capacidad para proteger ratones contra la muerte por intoxica-

FIGURA 1—Microfotografía electrónica de cuerpos elementales del tracoma en suspensión purificada por genetrón (22,500 X).



ción (32). Los ratones mueren entre 1 y 24 horas después de la inyección intravenosa de suspensiones potentes de *Bedsonias* vivas. Esas defunciones pueden prevenirse mediante la inmunización previa con cepas homólogas, administrándoseles por vía intravenosa 0.5 ml de una dilución de vacuna dos veces con una semana de intervalo y aplicándoseles, una semana después, una inoculación de prueba por inyección intravenosa con, aproximadamente, el 1.5 del 50% de la dosis letal ($1.5 LD_{50}$). Se emplean diluciones al décimo, comenzando con una suspensión al 10% a base del peso del saco original (1 g/ml = 100%). En el ejemplo de la prueba de potencia de la vacuna que aparece en el cuadro 1, la dosis 50% eficaz o protectora (ED_{50}) resultó ser una suspensión al 0.246 por ciento. Esa dilución de la vacuna contenía 1.6×10^5 partículas por ml.

Las dosis 50% eficaces (ED_{50}) del orden de 10^5 a 10^6 cuerpos elementales se han encontrado, por lo general, en preparaciones de vacuna que se han probado con cada uno de los métodos de purificación. Han podido reproducirse los resultados en pruebas repetidas de la misma vacuna.

Tipos antigénicos de los microorganismos "TRIC"

El cuadro 2 muestra la clasificación antigénica que se ha hecho de las cepas del tracoma y las conjuntivitis por cuerpos de inclusión (TRIC). Esta clasificación se funda en la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón, con protección cruzada. Los ratones inmunizados mediante una cepa homóloga, en la forma que acaba de describirse, quedan protegidos mientras que los vacunados con cepas de otros tipos no reciben pro-

CUADRO 1—Prueba de potencia de la vacuna contra el tracoma TW-3, purificada con genetrón, en el ensayo de prevención del ratón contra la toxicidad.

Dilución de la vacuna (%)	No. de ratones	Número de horas en que ocurrió la muerte después de la inoculación de prueba								D/T	ED ₅₀		
10.0	10	NO								1/10			
1.0	10	NO								2/10			
0.1	10	3	3	4	4	5½	NO			6/10	0.246%		
0.01	10	3	4	4	5	5	5	5	NO	NO	NO	10/10	(1.6 × 10 ⁶)
0.001	10	3	3	4	4	4½	5	5	7	7	NO	10/10	

Titulación simultánea de la dosis de inoculación de prueba utilizada, TW-3:20% s.v.

TW-3 v.s. 20.0	6	3	5	NO	NO	NO				5/6	
TW-3 v.s. 13.3	6	NO	NO							2/6	(LD ₅₀ :14.8%)
TW-3 v.s. 8.9	6	NO	NO							1/6	

La vacuna ensayada contenía 1.3×10^9 partículas por ml en suspensión al 2,000 por ciento. Dosis de inoculación de prueba = 20% / 14.8% = 1.35 LD₅₀.

Nota: Se administran dos dosis inmunizantes de 0.5 ml de dilución de la vacuna, con una semana de intervalo, por vía intravenosa, y por la misma vía se aplica la dosis de inoculación de prueba, de 0.5 ml, una semana después de la última dosis de vacuna.

NO = Ratón muerto durante la noche.

tección. Los tipos A, B y C sólo contienen cepas del tracoma; 65 cepas que representan a las del tracoma ocular en todo el mundo, se han clasificado hasta la fecha en estos tres tipos (2, 30). Esta clasificación concuerda muy estrechamente con la propuesta por Bell y sus colaboradores, que originalmente idearon la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón, con protección cruzada, para el tracoma (4, 5) y actualmente están empleando un método de anticuerpos

fluorescentes para la clasificación (3). Bell propone dos tipos, uno de ellos con dos subtipos principales. Las cepas ensayadas en los dos laboratorios se han agrupado de manera idéntica.

Recientemente se describieron otros tres tipos—D, E y F—constituidos principalmente por cepas de los órganos genitales y de la conjuntivitis por cuerpos de inclusión del recién nacido. Aunque por lo menos algunas de estas cepas pueden producir el

CUADRO 2—Clasificación antigénica de cepas TRIC en seis tipos, fundada en la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón, con protección cruzada.

A	B	C
5-TO-Oriente Medio y Africa	13-TO-Taiwán 6-TO-Oriente Medio y Africa 2-TO-Australia 2-TO-EUA	22-TO-Taiwán 14-TO-India 1-TO-Canadá
D	E	F
1-TO-Africa 1-CN-EUA 1-Cx-EUA 1-Ur-Gran Bretaña	1-TO-EUA 1-Ur-Gran Bretaña 1-Cx-Gran Bretaña 1-Cx-EUA 2-Cx-Taiwán	1-CN-EUA 1-Ur-Gran Bretaña 1-QP-Gran Bretaña 1-Cx-Gran Bretaña 1-Cx-EUA 3-Cx-Taiwán

TO = Tracoma ocular; CN = Conjuntivitis neonatal; Cx = Cervix; Ur = Uretra.
QP = Queratitis punteada.

síndrome del tracoma, al parecer tienen una epidemiología diferente. También se han encontrado algunas diferencias biológicas en el laboratorio: las cepas de tipos D, E y F producen una enfermedad más grave en el ojo del mono y son más resistentes a la penicilina (26).

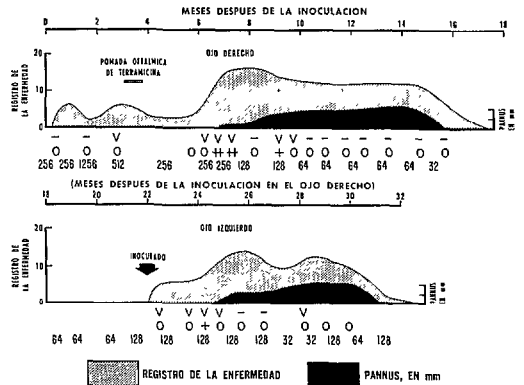
El hecho de que concuerden las observaciones de dos laboratorios que emplean dos métodos diferentes sugiere que una clasificación un tanto similar a la que aparece en el cuadro 2 será la que llegue a abarcar los agentes del tracoma y los de la conjuntivitis por cuerpos de inclusión.

Experimentos con la vacuna contra el tracoma en primates

Sólo los primates presentan infecciones conjuntivales con los agentes TRIC. Collier ha utilizado mandriles en una serie de experimentos con la vacuna (8, 10) y Wang, Grayston y Alexander han practicado pruebas con el mono *Macaca cyclopsis* de Formosa (34). La mayoría de las infecciones por TRIC en el ojo de los primates se manifiestan por una conjuntivitis folicular aguda que desaparece espontáneamente en unos cuantos meses. Sin embargo, por excepción Wang y Grayston han visto una enfermedad recurrente de gravedad creciente, con pannus y cicatrices conjuntivales características del tracoma humano (33).

En la figura 2 se registra la evolución de una infección en un mono inoculado con la cepa TW-1 del tracoma ocular de Taiwán. Antes de la inoculación, se le había inmunizado con la vacuna de cepa TW-1 y se había demostrado un título de anticuerpos de fijación del complemento de 1:256. Después de la inoculación, se desarrolló una conjuntivitis folicular aguda en el ojo derecho, que comenzó a desaparecer seis semanas más tarde, pero luego se produjo una recaída espontánea de la infección. Tras tratamiento con pomada oftálmica de tetraciclina, que redujo la gravedad de la enfermedad, hubo otra recaída grave a los seis meses,

FIGURA 2—Evolución y datos de laboratorio de una infección de tracoma con la cepa TW-1 en el mono No. 13, que había recibido vacuna TW-1 PEB con alumbre.



seguida de formación de pannus con congestión vascular hasta de dos milímetros. La enfermedad curó espontáneamente 17 meses después de la inoculación. Cinco meses más tarde, el ojo izquierdo, anteriormente no afectado, fue inoculado con la cepa TW-1 y se presentó otra enfermedad extraordinariamente intensa con formación de pannus. La importancia de la respuesta del huésped sobre la gravedad de evolución de la enfermedad y la formación de pannus en los dos ojos de ese mono se pone de relieve por el hecho de que no se observó la formación de pannus en otros 100 ojos de mono infectados con la cepa TW-1.

En el cuadro 3 se presenta un resumen de la frecuencia con que se ha observado formación de pannus en la infección del ojo

CUADRO 3—Frecuencia del desarrollo de pannus en el tracoma del mono.

Cepa TRIC	Sin infección ni vacuna previas	Previamente, infecciones TRIC, vacuna o ambas cosas
TW-1	0/18 ^a	2/84
TW-3	0/29	0/129
Bour	0/53	23/194
IC-Cal-3	0/15	5/59
Otras	0/12	0/24
Total	0/27	30/490

^a Número de inoculaciones en ojo de mono que producen pannus en relación con el número de las que producen enfermedad.

del mono. En un total de 617 infecciones de ojo de mono, se desarrolló pannus en 30. Todos los casos se registraron en monos que previamente habían sido infectados con agentes TRIC, habían recibido vacuna, o las dos cosas. No hubo pannus en los 127 monos previamente no infectados. El pannus se desarrolló mucho más frecuentemente después de la infección con las cepas Bour o IC-Cal-3 que después de la infección con las cepas TW-1 y TW-3 del tracoma ocular. Las cepas Bour e IC-Cal-3 son los tipos E y F en la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón; le cepa IC-Cal-3 procede de la conjuntivitis neonatal y la cepa Bour del tracoma ocular en un varón blanco de California. Se sospecha que esta última cepa puede estar asociada a un estado epidemiológico del aparato genital.

Las observaciones registradas en el modelo de mono indican que los cambios tracomatosos crónicos de pannus y cicatrización están asociados con una respuesta de hipersensibilidad del huésped al organismo condicionado por una infección o inmunización previa con una cepa homóloga o heteróloga (33).

Se ha utilizado este modelo de ojo para una serie de experimentos con vacunas. La inoculación experimental del ojo de mono, frotando enérgicamente la conjuntiva, de un lado a otro 20 veces, con una escobilla que lleve en la punta algodón empapado con una suspensión de microorganismos vivos ha resultado ser una fuerte prueba para investigar la inmunidad. Sólo vacunas sumamente potentes han prevenido la infección. En los primeros experimentos con suspensiones acuosas crudas o tratadas con polimixina, se obtuvieron resultados irregulares. Algunas veces, los monos vacunados tenían enfermedades con más frecuencia y de mayor gravedad que los testigos (16).

Comenzando con experimentos en los que se emplearon adyuvantes de aceite mineral para potenciar el efecto de la vacuna, se obtuvo una protección uniforme de una

porción, por lo menos, de los monos (34). Las suspensiones crudas de vacuna, tanto viva como formolizada, mezcladas con adyuvantes completos o incompletos de aceite de tipo Freund, han proporcionado protección contra la enfermedad.

En cuanto se supo que podía obtenerse protección, se comenzó a estudiar vacunas purificadas, y en una serie de experimentos se demostró que las vacunas altamente purificadas mediante genetrón, gradiente de sacarosa o Sephadex dietilaminoetilénico eran tan eficaces como las suspensiones crudas para proteger a los monos. La vacuna tratada con polimixina mostró algún efecto protector cuando se mezcló con adyuvantes de aceite mineral, pero menos que el de las otras vacunas. También se logró evaluar la protección cruzada entre diferentes cepas TRIC y la importancia de tipos determinados conforme a la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón.

En una serie de experimentos con las cepas Bour e IC-Cal-3, se demostró que las vacunas altamente purificadas eran tan eficaces como las suspensiones crudas para proteger a los monos y que no había protección cruzada entre los dos tipos. En los experimentos de reacciones provocadas de Bour que aparecen en el cuadro 4, se obtuvo una infección relativamente leve de los mo-

CUADRO 4—Experimentos de vacunación en el mono con las cepas Bour e IC-Cal-3, inoculación de prueba de Bour.

	Inoculación de prueba de Bour		Registro medio de la enfermedad
	Infectados/inoculados para prueba		
Testigo	16/27	57%	4.4
Vacuna de Bour			
Cruda	3/15	20%	
Con genetrón	4/22	18%	
Con gradiente	3/11	27%	
Total	10/48	21%	5.7
Vacuna IC-Cal-3	4/6	67%	8.8

Nota: El registro medio de la enfermedad está calculado únicamente en monos que presentan la enfermedad ocular.

CUADRO 5—Experimentos de vacunación en el mono con las cepas Bour e IC-Cal-3, inoculación de prueba con IC-Cal-3.

	Inoculación de prueba con IC-Cal-3		Registro medio de la enfermedad
	Infectados/inoculados para prueba	%	
Testigo	30/31	97%	4.3
Vacuna IC-Cal-3	13/21	62%	4.1
Vacuna de Bour	22/22	100%	6.0

Nota: El registro medio de la enfermedad está calculado únicamente en monos que presentan la enfermedad ocular.

nos testigo en 16 de 27 que presentaron la enfermedad. Se encontró buena protección con los tres tipos de vacuna Bour. La vacuna heteróloga IC-Cal-3 no protegió contra la infección, y la enfermedad de los monos infectados fue más grave, conforme a la medición del registro medio de la enfermedad (29). En el cuadro 5 aparece el experimento recíproco con reacción provocada con IC-Cal-3. De 31 testigos, 30 fueron infectados. La protección proporcionada por la vacuna fue menor contra esta prueba más severa. Aquí también, la vacuna heteróloga no proporcionó protección y se observaron peores registros de la enfermedad. Aunque no aparecen las cifras detalladas, el grupo de la vacuna IC-Cal-3 comprendió tanto vacunas purificadas como crudas, que dieron igual protección.

El cuadro 6 muestra un experimento de vacuna en el mono, en el que pudieron disponerse de cuentas de partículas de cuerpos elementales en las vacunas de la cepa TW-3. Se aplicaron tres inyecciones de

0.25 ml de las vacunas con adyuvante de aceite, a los 0, 1 y 4 meses. Seis semanas más tarde se practicó la inoculación de prueba con la cepa TW-3. Se infectaron cuatro de siete monos testigo que habían sido protegidos contra la infección mediante una vacuna de gérmenes vivos, en crudo. Una vacuna similar a la que se había agregado formalina protegió a todos los monos excepto a uno; la vacuna preparada mediante purificación en columnas de Sephadex dietilaminoetilénico y que contenía 10^8 partículas de cuerpos elementales fue igualmente protectora. En cambio, una que contenía una cantidad de partículas inferior en una cifra logarítmica, no otorgó protección y los registros de la enfermedad observados fueron peores que los de los monos testigo. La vacuna con 10^8 partículas administrada en forma de preparación líquida sin adyuvantes oleosos no ofreció protección en dos de los tres monos ensayados. Recientemente se ha empleado vacuna con 5×10^{10} partículas por vía tanto intramuscular como intravenosa, sin adyuvante oleoso, en gran cantidad de monos, y no se ha logrado producir protección.

El cuadro 7 muestra un experimento con dos vacunas de la cepa tipo B TW-5, una preparada con gradiente de sacarosa y la otra mediante extracción con genetrón. Las vacunas fueron tratadas con formalina y mezcladas con adyuvante de aceite mineral. Las dos habían sido almacenadas en el refrigerador durante casi un año antes de la prueba. Se inocularon a una serie de monos

CUADRO 6—Experimentos de vacunación en el mono con cepas TW-3.

Vacuna	Registro acumulativo de la enfermedad durante 10 semanas ^a						
Testigo	17	17	13	12	0	0	0
Viva, cruda	0	0	0	0	0	0	0
Cruda, con formalina	20	0	0	0	0	0	0
PSD (1.6×10^8)	24	0	0	0	0	0	0
PSD (3.5×10^7)	62	61	47	39	33	0	0
PSD líquida (3.2×10^8)	20	7	0				

Nota: Todas las vacunas fueron con adyuvante de aceite mineral, excepto la última, señalada como "líquida".

^a Cada número representa un mono.

CUADRO 7—Experimento con vacuna contra el tracoma en el mono, utilizando dos cepas de vacuna del Tipo B y simultáneamente inoculaciones de prueba con el Tipo B y el Tipo C, una cepa en cada ojo.

Vacuna TW-5		Registro acumulativo de la enfermedad durante 10 semanas													
		TW-3 en el ojo izquierdo							TW-1 en el ojo derecho						
Testigo		54	40	49	43	35	16	15	51	46	42	32	31	8	0
Vacuna con gradiente	4×10^9	60	41	38	34	33	16	0	29	24	0	0	0	0	0
	4×10^8	49	46	46	42	34	34	16	35	33	12	10	0	0	0
	4×10^7	48	47	41	40	32	38	0	36	34	25	15	0	0	0
Vacuna con genetrón	4×10^9	58	51	44	39	26	24	6	28	0	0	0	0	0	0
	4×10^8	71	53	43	40	36	30	4	54	42	34	30	26	8	0
	4×10^7	60	45	45	42	30	26	0	44	37	33	18	7	0	0

diluciones al décimo de las vacunas que originalmente contenían 4×10^9 partículas. Con un mes de intervalo se administraron dos dosis divididas de 1 ml. Seis semanas más tarde se inocularon los monos en el ojo derecho con cepa del tipo B TW-1 y en el ojo izquierdo con cepa del tipo C TW-3. En todos los casos, excepto uno, se infectaron los dos ojos de los monos testigo y presentaron una enfermedad relativamente grave para estas cepas de tracoma ocular. La vacuna de gradiente diluido mostró protección ligera, pero la tratada con genetrón, no. Esto guarda correlación con las pruebas de potencia en el ratón, en las que el gradiente fue más fuerte. No hubo protección contra la infección TW-3.

Estos y otros experimentos han mostrado que se necesitan vacunas con cuentas de partículas de 10^8 a 10^9 para proteger el ojo del mono contra la inoculación de prueba. Las vacunas purificadas con fluorocarbono, en las que están inactivadas las partículas de cuerpos elementales, reiteradamente han sido por lo menos tan eficaces para prevenir la infección como las preparaciones con gradiente de sacarosa o purificadas con Sephadex dietilaminoetilénico de igual cantidad de partículas. Hasta ahora se ha comprobado por experimentos de inoculación cruzada de prueba en monos la significación de cuatro de los seis tipos antigénicos conforme se determinó en la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón: los tipos B, C, E y F. En un experimento reciente,

inédito, practicado en monos, se ha mostrado que una vacuna trivalente que contiene agentes de los tipos A, B y C del tracoma ocular protege en forma aproximadamente igual contra los tres tipos, aplicando una en cada ojo en diversas combinaciones.

Los experimentos con vacuna en monos ha ofrecido la oportunidad de comparar la protección del ojo del mono con la potencia determinada en la prueba de prevención de la toxicidad en el ratón. Se ha encontrado una correlación razonablemente buena con la protección al mono, que requiere aproximadamente una cantidad de partículas superior en tres logaritmos por milímetro a la necesaria para la protección del ratón. Los ensayos prácticos en seres humanos han mostrado protección con vacunas menos potentes que las necesarias para prevenir la infección experimental en los monos.

Collier, en sus estudios sobre vacunas en mandriles (9) llegó a la conclusión de que los microorganismos TRIC inyectados por vía intravenosa constituyen la protección más eficaz contra la infección. Después de la inactivación con formalina o de emplear como adyuvante el aceite mineral, ha proporcionado menos protección efectiva y, en casos excepcionales, ha aumentado la enfermedad. Ese autor ha mostrado que, después de la inyección parentérica de microorganismos vivos, hay un aumento considerable de volumen de los ganglios linfáticos regionales y del bazo (10). Ese desarrollo de los microorganismos vivos des-

pués de la inyección justificaría el aumento de la potencia de esas vacunas.

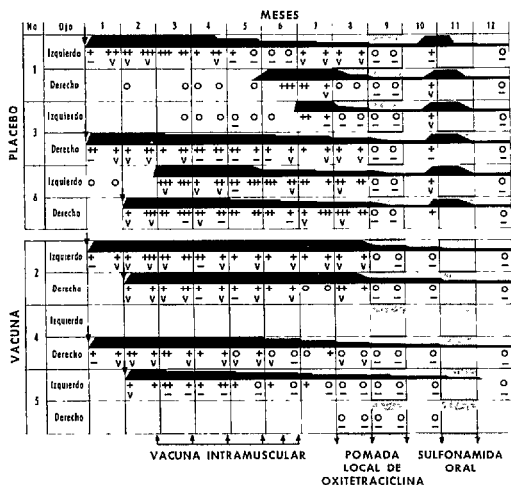
Estudios sobre la vacuna contra el tracoma en seres humanos

En 1958-1959 se tomó la decisión de infectar a seres humanos con los microorganismos de cuerpos elementales recientemente aislados, para probar que eran los agentes etiológicos del tracoma. Se aprovechó la oportunidad para estudiar el efecto de la vacuna tratada con polimixina sobre la evolución de las enfermedades experimentales (14). La figura 3 muestra la evolución de la enfermedad ocular en seis voluntarios ciegos que fueron infectados con cepa TW-1. Todos presentaron rápidamente la enfermedad en el ojo inoculado. La altura de la barra en el gráfico indica la gravedad de la conjuntivitis folicular. De los tres voluntarios a quienes se administró el placebo, el 6 sufrió una diseminación al ojo no inoculado un mes después de la infección, y el 1 y el

3 mostraron propagación de la infección después de cuatro a seis meses. Los seis ojos fueron tratados con pomada oftálmica de tetraciclina durante el noveno mes después de la infección. El ojo infectado por propagación también fue tratado durante el octavo mes en los voluntarios 1 y 3. Tras obtener la curación casi completa de la enfermedad mediante el tratamiento, se observó con gran sorpresa, varias semanas después, una recaída aguda de los seis ojos. Fue necesario volver a tratar a esos voluntarios con sulfonamidas por vía oral para curarlos. Entre los otros tres voluntarios, que unos dos meses después de su infección experimental se sometieron a una serie de inyecciones de vacuna PEB, el 2 fue infectado deliberadamente en el otro ojo un mes después de la primera inyección. Los otros dos nunca sufrieron infección por propagación en el ojo no inoculado. La diferencia más impresionante entre estos tres voluntarios vacunados y los tres que recibieron el placebo fue que después del mes de tratamiento con pomada oftálmica de tetraciclina, no hubo recaída de la enfermedad.

Cuando los estudios en monos y voluntarios humanos (15) habían mostrado que no había reacciones adversas a las preparaciones de vacuna contra el tracoma, se emprendió el primer ensayo sobre el terreno para probar la eficacia de protección de la vacuna en niños preescolares en una zona rural agrícola cercana al litoral de Taiwán central. En el cuadro 8 se resumen tanto el resultado de este antiguo ensayo sobre el terreno, iniciado en 1959 y proseguido durante seis años, como los resultados de un reciente ensayo práctico de vacunación en la zona de la India correspondiente a Nueva Delhi. La vacuna utilizada en Taiwán fue un material relativamente poco activo, tratado con polimixina (PEB) y mezclado con alumbre. Se aplicaron cuatro inyecciones durante los dos primeros años. El índice de ataque en el curso de seis años fue de cerca del 50 por ciento. Hubo una protección estadística-

FIGURA 3—Evolución de la infección ocular en seis voluntarios humanos ciegos infectados experimentalmente con la cepa del agente del tracoma.



Fuente: Grayston, J. T., Wang, S. P., Yang, W. F. y Woolridge, R. L. "The Effect of Trachoma Virus Vaccine on the Course of Experimental Trachoma Infection in Blind Human Volunteers". *J Exp Med* 115:1016, 1962.

Nota: La barra representa la intensidad de la reacción folicular. Tres voluntarios recibieron la vacuna contra el tracoma; tres recibieron placebos.

CUADRO 8—Ensayos sobre el terreno de vacuna contra el tracoma en niños preescolares.

Lugar y tratamiento	No. de sujetos	Porcentaje de conversión al tracoma		
		1 año	2 años	3 años
Taiwán, placebo	193	10	16	49
vacuna, PEB	169	4	8	47
Eficacia		66%	47%	
India, placebo	87	37		
vacuna con genetrón	90	19		
vacuna con gradiente	92	10		
Eficacia, con genetrón		50%		
con gradiente		73%		

mente significativa después de uno y dos años del estudio, pero la protección disminuyó gradualmente hasta que al cabo de seis años no había esencialmente diferencia entre los niños que habían recibido el placebo y los que recibieron la vacuna (39). El estudio de la India se inició en 1965 y se llevó a cabo bajo los auspicios del Departamento de Oftalmología del Instituto Panindio de Ciencias Médicas (13). Se ensayaron vacunas purificadas con genetrón y tratadas con gradiente, de alta cuenta de partículas. Se aplicaron dos inyecciones, con tres meses de intervalo, sin adyuvante. La observación ulterior durante un año mostró una protección especialmente buena con la vacuna con genetrón y también una protección estadísticamente significativa con la vacuna con

gradiente. El índice de ataque en el grupo que recibió el placebo fue alto, como se esperaba. En la prueba en el ratón, la vacuna con gradiente tuvo 600 unidades de potencia y la vacuna con genetrón tuvo 300 unidades, corriendo así parejas con la mayor eficacia de la vacuna con gradiente en el ensayo sobre el terreno.

También se ensayaron sobre el terreno vacunas con adyuvante de aceite mineral (38). Esos estudios se practicaron en escolares de primero y segundo grados en la zona central de Taiwán. El cuadro 9 muestra dos ensayos de prevención, uno con una vacuna bivalente y otro con una vacuna monovalente. La vacuna bivalente TW-1 y TW-3, preparada en Sephadex dietilaminoetilénico, estaba altamente purificada pero

CUADRO 9—Ensayos sobre el terreno de vacuna contra el tracoma, con adyuvante de aceite mineral, en escolares de Taiwán.

Vacuna	No. de sujetos	Porcentaje de conversión al tracoma		
		1 año	2 años	3 años
Bivalente (TW-1 y TW-3)				
Placebo	354	4	7	9
Vacuna	351	2	4	5
Eficacia		46%	45%	42%
Monovalente (TW-3)				
Placebo	299	2	3	3
Vacuna	299	5	7	8

contenía una cuenta relativamente reducida de partículas. Cada niño recibió un poco menos de 1×10^7 cuerpos elementales de cada cepa en dos inyecciones de 0.25 ml. Esto se compara con la cifra de 2 a 4×10^9 partículas recibidas por cada niño en el estudio realizado en Nueva Delhi. Aunque el índice de ataque fue bajo, hubo una protección estadísticamente significativa mediante la vacuna durante los tres años de observación.

En el estudio en que se utilizó vacuna monovalente TW-3 de la misma manera, hubo un índice de ataque mayor entre los niños que recibieron la vacuna que entre los que recibieron el placebo. El índice de ataque en el grupo que tomó el placebo fue bastante bajo (sólo 3% en el curso de tres años) mientras que la conversión al tracoma alcanzó un 8% en el grupo vacunado. Como se ha mostrado que los tipos B y C de tracoma son de igual prevalencia en Taiwán (30), el efecto nocivo observado tras el empleo de la vacuna monovalente puede deberse a un fenómeno similar al efecto de hipersensibilidad de la inoculación de prueba heteróloga observada en los experimentos en monos antes mencionados. Con estas vacunas con adyuvante de aceite mineral no se observaron reacciones inmediatas ni tardías que tuviesen importancia alguna.

En vista de la demostración reiterada de la necesidad de adyuvantes oleosos para la protección de los monos, de la falta de reacciones secundarias adversas y de la necesidad evidente de una vacuna más activa y de efecto más prolongado contra el tracoma, se estima que deben realizarse nuevos ensayos en seres humanos con una vacuna bivalente o trivalente que contenga una concentración más alta de microorganismos del tracoma.

Siguiendo otro criterio sobre el empleo de la vacuna, se practicaron tres ensayos sobre el terreno para observar el efecto de la vacuna más la terapéutica medicamentosa en escolares de primero y segundo grados,

con tracoma activo (36). En ninguno de esos estudios se demostró efecto curativo alguno de la vacuna y en cada caso fue motivo de desilusión que no se curase más que un pequeño porcentaje de niños tracomatosos con el tratamiento a base de pomada oftálmica de tetraciclina únicamente o asociada con sulfonamidas por vía oral. En un estudio, después de dos series intensivas de tratamiento, se pudo curar temporalmente a 97 niños que habían recibido el placebo y a 86 que recibieron vacuna bivalente con adyuvante oleoso. La vacuna fue la misma que se empleó en el ensayo preventivo sobre el terreno que se resume en el cuadro 9. En otra observación ulterior de dos años, se demostró que el 62% de los que recibieron el placebo y 37% de los que recibieron la vacuna presentaron reconversión al tracoma activo, lo que confiere a la vacuna un 40% de eficacia, tasa igual a la encontrada en el ensayo preventivo sobre el terreno.

Los resultados de los ensayos sobre el terreno que llevó a cabo el grupo de Harvard que aplicó vacunas en Arabia Saudita (9) y Portugal, así como Collier en Ghana (9), han mostrado sólo un grado reducido de protección, por lo general de corta duración, relativamente. Los dos grupos utilizaron adyuvantes de aceite mineral con la vacuna contra el tracoma y no observaron efectos adversos. El grupo de Harvard consignó la producción de abscesos estériles cuando se mezcló vacuna contra la tifoidea con adyuvante de aceite mineral para un material testigo (25). Los investigadores italianos han registrado resultados satisfactorios en diversos ensayos sobre el terreno (6). Un ensayo amplio proseguido durante tres años se consideró difícil de interpretar porque sólo pudo seguirse la pista a un pequeño porcentaje de los integrantes del grupo de estudio original (9). También emplearon adyuvantes oleosos y no observaron reacciones, excepto algunos nódulos persistentes en los lactantes. Además, en uno de los ensayos del grupo de Harvard se registró un efecto no-

civo, con mayor incidencia de enfermedad en los niños vacunados (21). Un dato interesante: una dilución al décimo de la vacuna que provocó el aumento del número de casos proporcionó protección de poca duración en el mismo ensayo.

Caracterización preliminar de antígenos del tracoma

Se han dificultado los estudios inmunológicos de los agentes TRIC por la escasez de buenas pruebas para analizar antígenos o anticuerpos. La prueba de prevención de la toxicidad en el ratón descrito anteriormente ha sido la más específica y útil de que puede disponerse. Se han emprendido estudios de la habilidad física y química de los antígenos protectores de tres cepas de tracoma, TW-3, TW-5 y ND-3 (35). Los antígenos protectores se definen como los que inmunizan activamente a los ratones contra la muerte por intoxicación. La observación más notable del estudio fue la de que los antígenos protectores eran sumamente termostables y conservaban la antigenicidad después de una hora de ebullición. El cuadro 10 muestra que también se conservó la antigenicidad después de los tratamientos siguientes: cinco ciclos de extracción con genetrón, precipitación en sulfato de amonio, oxidación por peryodato (solución 0.1 M de metaperyodato de sodio, una hora a la temperatura ambiente y toda la noche en el refrigerador), y deslipidización con acetona y éter (tres ciclos de cinco volúmenes de acetona, seguidos de tres ciclos de cuatro volúmenes de éter etílico). El efecto de esos tratamientos sobre la cuenta de partículas fue insignificante, excepto con el genetrón y el peryodato, con los cuales se provocó una pérdida de partículas aproximadamente igual a la reducción de una cifra logarítmica. Aunque hubo alguna pérdida de partículas con cada extracción con genetrón, la pérdida principal se registró después de cuatro y cinco tratamientos. La pérdida de efecto protector contra la toxicidad en el ratón fue paralela a la pérdida de

CUADRO 10—Caracterización preliminar de los antígenos del tracoma que protegen contra la toxicidad en el ratón.

	Dosis eficaces ₅₀ en la cuenta de partículas	
	Testigos	Tratados
Calentamiento a 100°C durante 60 minutos	4.4 × 10 ⁶	4.2 × 10 ⁶
Cinco extracciones con genetrón	2.2 × 10 ⁶	2.6 × 10 ⁶
Precipitación por sulfato de amonio	8.4 × 10 ⁶	9.0 × 10 ⁶
Oxidación por peryodato	3.8 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶
Extracción por acetona y éter	5.5 × 10 ⁶	5.5 × 10 ⁶
Tripsina al 0.5% a 37°C durante 2 horas	1.2 × 10 ⁶	1.1 × 10 ⁶
Hidrólisis alcalina	1.3 × 10 ⁶	4.1 × 10 ⁷

partículas. Por tanto, como se muestra en el cuadro 10, no se redujeron las dosis 50% eficaces (ED₅₀) en términos de la cuenta de partículas. Se destruyó la actividad antigénica sin pérdida de partículas por tratamiento de las preparaciones purificadas con tripsina en bruto al 0.5% durante dos horas a 37° C, y se perdió parcialmente esa actividad después de una hidrólisis alcalina moderada. Fallaron los intentos preliminares para extraer los antígenos protectores mediante precipitación por ácido tricloroacético o tratamiento con fenol, tanto en frío como en caliente. Se necesitarán otros estudios para llegar a determinar de forma razonable la naturaleza del antígeno protector.

En un informe preliminar, Peters ha indicado que el tratamiento con neuraminidasa aumenta las propiedades inmunogénicas y antigénicas de los microorganismos del tracoma (23). Ese autor inmunizó cobayos y midió la respuesta de anticuerpos mediante pruebas de fijación del complemento, hemaglutinación y anticuerpos fluorescentes. Peters encontró que el tratamiento con 2-mercaptoetanol y muramidasa tenía efectos reforzadores similares, aunque no tan pronunciados como los obtenidos con la neuraminidasa. Con otros tratamientos empleados por el mismo autor, no se reforzaron las propiedades de los antígenos.

Ciclo biológico del tracoma

Se necesita información sobre las características epidemiológicas del tracoma, con el objeto de saber a qué edad y en qué lugares puede utilizarse eficazmente la vacuna. Es claro que las características varían de una zona geográfica a otra. En aldeas cercanas a Nueva Delhi, en la zona utilizada para el ensayo de la vacuna sobre el terreno, a los dos años de edad más del 80% de los niños tenían tracoma (13). En Taiwán las tasas de prevalencia fueron mucho menores: 23% de los niños de primer grado en la zona rural de Taichung utilizados para el primer ensayo de la vacuna sobre el terreno, tenían tracoma, en tanto que el 11% tenía la enfermedad en forma activa al entrar a la escuela en las otras zonas centrales estudiadas. Las tasas de incidencia basadas en seis años de observaciones de los mismos niños en la zona rural de Taichung y en tres años de observación en las otras escuelas de Taiwán central, se presentan en el cuadro 11 (40). Las tasas de conversión anual reflejan la intensidad de la infección, como lo indican los índices de los niños que ingresan al primer grado. Esas tasas de incidencia son de gran interés porque muestran un índice de conversión anual más alto que el que puede obtenerse a base de las encuestas de prevalencia, lo que indica una reversión considerable a la forma inactiva de la enfermedad o al ojo normal.

Examinando a niños en repetidas ocasiones tanto en ensayos de vacunación sobre el terreno como en estudios del ciclo biológico de la enfermedad, con frecuencia se ha podido demostrar conversión y reversión en el mismo niño. En una serie de casos de niños, el diagnóstico clínico de tracoma

dudoso o inicial sin pannus fue confirmado mediante la prueba de infección que dio el laboratorio. Muchos de esos niños volvieron a tener su ojo normal, ulteriormente recayeron con el tracoma y finalmente se estableció en ellos tracoma crónico con pannus (40). Nichols, empleando la prueba de anticuerpos fluorescentes para determinar los frotis conjuntivales con inclusiones positivas, ha mostrado un porcentaje muy alto de cambios de positivos a negativos y una alta conversión a los positivos en períodos de seis meses en niños de Arabia Saudita (20). Esos datos clínicos y epidemiológicos, más el hecho de que el pannus sólo se presentó en monos re infectados o que recibieron vacuna, lleva a la conclusión de que la patogenia del tracoma depende de la respuesta inmunológica del huésped.

Se cree que el tracoma es una enfermedad por reinfección, en este aspecto semejante a la tuberculosis, en la cual la alergia al microorganismo infectante desempeña un papel en la evolución del cuadro patológico. En una zona como Taiwán, donde la tasa de prevalencia del tracoma aumenta cada año hasta la edad de 20 y en la que a esa edad afecta a la mitad, aproximadamente, de la población con enfermedad clínica, consideramos que en realidad casi todas las personas están infectadas y que sólo después de reinfecciones o recaídas reiteradas se desarrolla el cuadro clínico característico del tracoma crónico. En un estudio de los indios del Punjab en su propio ambiente y después de su inmigración a la Columbia Británica, Canadá, se mostró que la actividad sostenida de la enfermedad y el desarrollo de secuelas graves se hallaban directamente relacionados

CUADRO 11—Tasas de incidencia del tracoma en las zonas de Taiwán utilizadas para los ensayos de la vacuna sobre el terreno.

Zona y período	Índice de conversión anual durante seis años		
Zona rural de Taichung, 1960-1966	Preescolares	193	— 8.2 por año
	Primer grado	877	— 7.9 por año
	Índice de conversión anual durante tres años		
Taiwán Central, 1961-1965	Primer grado	3,993	— 3.9 por año
	Primer grado	653	— 2.1 por año

con la duración de la residencia en la zona endémica del Punjab e inversamente relacionados con la duración de la residencia en el Canadá (12). Estos datos indican que la reinfección es más importante que la recaída en la patogenia del tracoma.

Un argumento que se ha expuesto contra el concepto de la reinfección ha sido el de que en algunas ocasiones puede observarse el pannus en niños de uno a dos meses de edad en países hiperendémicos. Se considera que en la patogenia de ese pannus podría intervenir el paso de anticuerpos a través de la placenta, lo que sería similar a la hipótesis de Chanock de que los anticuerpos maternos de virus respiratorios sincitiales forman parte de la patología de las infecciones de las vías respiratorias inferiores en los primeros períodos de la vida (7). Recientemente, Alexander y Chiang mostraron que se presentaba una infección tracomatosa grave, con pannus, en la primera inoculación de monos de seis meses cuando se había inoculado el cuello uterino materno con una cepa homóloga antes del nacimiento (1). Al parecer, los pequeños monos se sensibilizaron sin sufrir ningún proceso patológico evidente, ni hubo afección patente del cuello uterino de la madre.

El concepto de la reinfección, en la patogenia del tracoma, ayuda a comprender mejor algunas de las reacciones de hipersensibilidad a la vacuna. Además de una mayor gravedad de la enfermedad después de la inoculación heteróloga de prueba, se han visto reiteradamente más infecciones y enfermedades más graves en monos que recibieron una vacuna de actividad insuficiente para proporcionar protección. Cuando se observó este fenómeno, hace varios años, se reafirmó la impresión al saber que Cox había observado un fenómeno similar años antes, en estudios de diversas vacunas víricas y rickettsiásicas (11). Aunque este autor no presentó resultados experimentales, declaró que las preparaciones que no contenían suficiente antígeno para producir una

buena vacuna inmunogénica, en realidad sensibilizaban a los animales vacunados y los hacían más susceptibles a la inoculación de prueba que los testigos no vacunados.

En un experimento con vacuna de *Mycoplasma pneumoniae* en voluntarios humanos, se confirió protección a los voluntarios que mostraron una respuesta de anticuerpos a la vacuna, pero en los que no presentaron respuesta de anticuerpos se observó mayor gravedad de la enfermedad en comparación con los testigos (28). Ya Parrott consignó los efectos nocivos de la vacuna de virus sincitiales respiratorios muertos (22) y Krugman presentó ejemplos de las reacciones alérgicas intensas a la vacuna antisarampionosa de virus vivos en niños que anteriormente habían recibido vacuna de virus muertos (17).

La hipersensibilidad a las vacunas parecería ser un fenómeno general que no ha recibido gran atención anteriormente. Este fenómeno puede ser más importante para la elaboración de vacunas de virus y rickettsias, especialmente las preparadas con estos gérmenes muertos, que la contaminación con virus tumorales, que es motivo de tanta preocupación en la actualidad.

Conclusión

En algunas circunstancias es posible proteger mediante la inmunización a los primates, inclusive los seres humanos, contra el tracoma. Se necesitan vacunas de mayor potencia y efectos más duraderos que puedan prepararse con más facilidad. Al mismo tiempo, deben encontrarse métodos de reducir los efectos de hipersensibilidad de la inmunización. El descubrimiento de una subfracción del microorganismo total constituye la mayor esperanza de obtener una inmunización más eficaz. En la actualidad no existe una vacuna eficaz producida en el comercio que pueda utilizarse de forma práctica en los países en vías de desarrollo, donde el tracoma constituye un problema grave, ni es probable que pueda disponerse

de una vacuna de este tipo en un futuro muy cercano.

Es muy considerable lo que se ha aprendido acerca de la inmunología del tracoma y de los microorganismos TRIC desde que fueron aislados por primera vez y cultivados en alguna cantidad hace menos de 10 años. Esos microorganismos intracelulares, con paredes celulares complejas, producen enfermedades con características inmunológicas y epidemiológicas interesantes. Se justifica proseguir trabajos encaminados a la prevención del tracoma, tanto por la importancia que tiene esta enfermedad en los países en vías de desarrollo como por los problemas inmunológicos, cuya posible aplicación es muy vasta, que plantea esta clase intermedia de microorganismos.

Resumen

Si bien la posibilidad de estudio del microorganismo causante del tracoma se remonta a menos de diez años, han sido considerables los progresos efectuados en el sentido de mejorar los conocimientos de la inmunología de la enfermedad y la protección mediante la inmunización. El agente del tracoma pertenece al grupo de microorganismos Bedsonia. Son parásitos intracelulares, con paredes celulares y métodos de reproducción similares a los de las bacterias. No se han establecido métodos satisfactorios de inmunización contra otros microorganismos Bedsonia.

El tracoma es una enfermedad periférica, crónica, recurrente y duradera. Salvo en lo que respecta a la posible curación espontánea, son escasas las pruebas existentes de inmunidad natural. A pesar de estos hechos desalentadores, estos estudios y los de otros

investigadores, han indicado que la infección del tracoma en seres humanos y primates (únicos animales de laboratorio que contraen conjuntivitis) puede evitarse en determinadas circunstancias, por medio de vacunas contra la enfermedad. También se ha registrado un determinado número de experimentos no satisfactorios.

Todos los estudios publicados en materia de vacuna contra el tracoma, procedentes de distintos laboratorios del mundo, han sido objeto, este año, de un análisis crítico por parte de Collier (*Bull Wld Hlth Org* 1966, 34:233-241). En el presente informe no se hace referencia a las publicaciones sobre la materia, sino que se analizan algunos de los progresos importantes alcanzados en el conocimiento de la inmunología del tracoma y en lo que respecta a la prevención de la enfermedad.

Puede afirmarse que una vacuna comercial eficaz, utilizable en los países en vías de desarrollo, donde el tracoma plantea un problema grave, no existe en la actualidad ni parece probable que pueda disponerse de la misma en un futuro inmediato. No obstante, con los rápidos progresos habidos en el campo de la inmunología en los últimos años, cabe esperar de que se puedan preparar vacunas de mayor eficacia y duración y que no provoquen hipersensibilidad nociva, a base de determinadas subunidades del microorganismo entero. □

Agradecimiento

El autor desea agradecer a sus colegas, los Dres. San-pin Wang, E. R. Alexander y R. L. Woolridge, la ayuda prestada en los numerosos estudios que contribuyeron a elaborar los conceptos expresados en el presente trabajo.

REFERENCIAS

- (1) Alexander, E. R. y Chiang, W. T. "Infection of Pregnant Monkeys and Their Offspring with TRIC Agents." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: 1145-1153, mayo 1967.
- (2) Alexander, E. R., Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Further Classification of TRIC Agents from Ocular Trachoma and Other Sources by the Mouse Toxicity Prevention Test." Trachoma Symposium. *Amer J*

- Ophthal* 63: Suppl:1469-1478, mayo 1967.
- (3) Bell, S. D., Jr. y McComb, D. E. "Differentiation of Trachoma Bedsoniae in vitro." *Proc Soc Exp Biol Med* 124:34-39, enero 1967.
- (4) Bell, S. D., Jr. y Theobald, B. "Differentiation of Trachoma Strains on the Basis of Immunization against Toxic Death of Mice." *Ann N Y Acad Sci* 98:337-345, 1962.
- (5) Bell, S. D., Jr., Snyder, J. C. y Murray, E. S. "Immunization of Mice against Toxic Doses of Homologous Elementary Bodies of Trachoma." *Science* 130:626-627, 1959.
- (6) Bietti, G. B. Atti dello Convegno Nazionale di "Oftalmologia Sociale," Nápoles, 170-191, 1964.
- (7) Chanock, R. M., Smith, C. B., Friedewald, W. T., Parrott, R. H., Forsyth, B. R., Coates, H. V., Zapikian, A. Z. y Gharpure, M. A. "Resistance to Parainfluenza and Respiratory Syncytial Virus Infection—Implications for Effective and Preliminary Study of an Attenuated Strain of Respiratory Syncytial Virus." En *First International Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man*. Pub. Cient. OPS 147, 53-61.
- (8) Collier, L. H. "Experiments with Trachoma Vaccines." *Lancet* 1:795-800, 1961.
- (9) Collier, L. H. "The Present Status of Trachoma Vaccination Studies." *Bull WHO* 34:223-241, 1966.
- (10) Collier, L. H. y Smith, A. "Dissemination and Immunogenicity of Live TRIC Agent in Baboons after Parenteral Injection." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: 1589-1602, mayo 1967.
- (11) Cox, H. R. "The Present Status of Polio Vaccine." *Illinois Med J* 118:162, 1960.
- (12) Detels, R., Alexander, E. R. y Dhir, S. P. "Trachoma in Punjabi Indians in British Columbia: A Prevalence Study with Comparisons to India." *Amer J Epidem* 84: 81-91, 1966.
- (13) Dhir, S. P., Agarwal, L. P., Detels, R., Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Field Trial of Two Bivalent Trachoma Vaccines in Children in Punjab Indian Villages." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: 1639-1644, mayo 1967.
- (14) Grayston, J. T., Wang, S. P., Yang, Y. F. y Woolridge, R. I. "The Effect of Trachoma Virus Vaccine on the Course of Experimental Trachoma Infection in Blind Human Volunteers." *J Exp Med* 115: 1009-1022, 1962.
- (15) Grayston, J. T., Woolridge, R. L., Khaw, O. K., Tai, F. T., Lin, H. M. y Wang, S. P. "Trachoma Vaccine Studies in Volunteer Students of the National Defense Medical Center. I. Complement Fixation Antibody Response to Three Vaccines." *Chin Med J (Peking)* 8: 307-311.
- (16) Grayston, J. T., Woolridge, R. L. y Wang, S. P. "Trachoma Vaccine Studies on Taiwan." *Ann N Y Acad Sci* 98:352-367, 1962.
- (17) Krugman, S., Giles, J. P. y Friedman, H. "Studies of Immunity to Measles." En *First International Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man*. Pub. Cient. OPS 147, 353-360.
- (18) Moulder, J. W. *The Psittacosis Group as Bacteria*. Nueva York: John Wiley and Sons, Inc., 1964.
- (19) Moulder, J. W. "Metabolic Capabilities and Deficiencies of Rickettsiae and Psittacosis Group." *Int J Leprosy* 33:494-499, 1955.
- (20) Nichols, R. L. "The Microbiologic Epidemiology of Trachoma in Saudi Arabia." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: mayo 1967.
- (21) Nichols, R. L., Bell, S. D., Jr., Murray, E. S., Haddad, N. A. y Bobb, A. A. "Studies on Trachoma. V. Clinical Observations in a Field Trial of Bivalent Trachoma Vaccine at Three Dosage Levels in Saudi Arabia." *Amer J Trop Med* 15:639-647, 1966.
- (22) Parrott, R. H., Kim, H. W., Arrobio, J. O., Canchola, J. G., Brandt, C. D., De Meo, J. L., Jensen, K. E. y Chanock, R. M. "Experience with Inactivated Respiratory Syncytial and Parainfluenza Virus Vaccines in Infants." En *First International Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man*. Pub. Cient. 147, págs. 35-41.
- (23) Peters, J. H. "Immunogenic and Antigenic Modification of Trachoma Bedsoniae." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: 1506-1512, mayo 1967.
- (24) Reeve, P. y Taverne, J. "A Simple Method for Total Particle Counts of Trachoma and Inclusion Blenorrhoea Viruses." *Nature* 195:923-924, 1962.
- (25) Sampaio, A. A., Ayres, L., Haddad, N. A., Bell, S. D., Jr., Murray, E. S. y Snyder, J. C. "Studies of Trachoma. IV. Investigations in Portugal on Formalin-Killed Trachoma Vaccines with Special Reference to Serologic Response." *Amer J Trop Med* 12:909-915, 1963.
- (26) Shiao, L. C., Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Sensitivity and Resistance of TRIC Agents to Penicillin, Tetracycline and Sulfa Drugs." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthal* 63: Suppl: 1558-1568, mayo 1967.
- (27) Snyder, J. C., Bell, S. D., Jr., Murray, E. S. y Nichols, R. L. "Reactions among Infants Immunized Intramuscularly with Typhoid Vaccine in Adjuvant." *J Bact* 91:902, 1966.
- (28) Smith, C. B., Friedewald, W. T. y Chanock,

- R. M. "Inactivated *M. pneumoniae* Vaccine. Evaluation in Volunteers." *JAMA* 199:353-358, 1967.
- (29) Wang, S. P. "Clinical Evaluation of Monkey Eye Infection with TRIC Agent. A Numerical Scoring System of Disease Severity." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1321-1326, mayo 1967.
- (30) Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Classification of Trachoma Virus Strains by Protection of Mice from Toxic Death." *J Immun* 90:849-856, 1963.
- (31) Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Egg Infectivity Assay of Trachoma Virus." *Proc Soc Exp Biol Med* 587-591, 1964.
- (32) Wang, S. P. y Grayston, J. T. "A Potency Test for Trachoma Vaccine Utilizing the Mouse Toxicity Prevention Test." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1443-1454, mayo 1967.
- (33) Wang, S. P. y Grayston, J. T. "Pannus with Experimental Trachoma and Inclusion Conjunctivitis Agent Infection of Taiwan Monkeys." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1133-1145, mayo 1967.
- (34) Wang, S. P., Grayston, J. T. y Alexander, E. R. "Trachoma Vaccine Studies in Monkeys." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1615-1630, mayo 1967.
- (35) Wang, S. P., Kenny, G. E. y Grayston, J. T. "Characterization of Trachoma Antigens Protective against Mouse Toxicity." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1454-1461, mayo 1967.
- (36) Woolridge, R. L., Cheng, K. H., Chang, I. H., Yang, C. Y., Hsu, T. C. y Grayston, J. T. "Failure of Trachoma Treatment with Ophthalmic Antibiotics and Systemic Sulfonamides Used Alone or in Combination with Trachoma Vaccine." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1577-1586, mayo 1967.
- (37) Woolridge, R. L. y Grayston, J. T. "Further Studies with a Complement Fixation Test of Trachoma." *Ann N Y Acad Sci* 98: 314-328, 1962.
- (38) Woolridge, R. L., Grayston, J. T., Chang, I. H., Cheng, K. H., Yang, C. Y. y Neave, C. "Field Trial of a Monovalent and of a Bivalent Mineral Oil Adjuvant Trachoma Vaccine in Taiwan School Children." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1645-1650, mayo 1967.
- (39) Woolridge, R. L., Graystone, J. T., Chang, I. H., Yang, C. Y. y Cheng, K. H. "Long-Term Follow-up of the Initial (1959-1960) Trachoma Vaccine Field Trial on Taiwan." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1650-1655, mayo 1967.
- (40) Woolridge, R. L., Grayston, J. T., Perrin, E. B., Yang, C. Y., Cheng, K. H. y Chang, I. H. "Natural History of Trachoma in Taiwan School Children." Trachoma Symposium. *Amer J Ophthalm* 63: Suppl: 1313-1320, mayo 1967.

Immunization against Trachoma (Summary)

Although the trachoma organism has been available to study for less than 10 years, considerable progress has been made toward a better understanding of the immunology of the disease and development of prevention by immunization. The trachoma agent is a member of the Bedsonia group of organisms. They are intracellular parasites with cell walls and methods of reproduction similar to bacteria. Successful methods of immunization against other Bedsonia have not been developed. Trachoma is a peripheral disease that is chronic, recurrent, and long-lasting. Except for eventual spontaneous cure, there is little evidence of natural immunity. Despite these discouraging facts, it has been shown by these studies and those of other workers that trachoma infection in humans and in primates (the only laboratory animal that develops conjunctival disease) can be prevented under certain circumstances with

trachoma vaccines. A number of unsuccessful experiments have also been recorded. All published trachoma vaccine studies that come from a number of different laboratories around the world have been critically reviewed this year by Collier, (*Bull Wld Hlth Org*, 1966, 34:233-241). The present report will not review the literature but will discuss some of the important advances in the knowledge of the immunology of trachoma and present developments toward prevention. It can be stated that a commercial effective vaccine, feasible for use in developing countries where trachoma is a serious problem, is not now available nor does it seem likely such a vaccine will be available in the near future. However the rapid advances in immunology in recent years provide hope that more effective, long-lasting vaccines without undesirable hypersensitive effects can be prepared from subunits of the whole organism.

Imunização Contra Tracoma (Resumo)

Embora o estudo do microrganismo do tracoma tenha sido iniciado há menos de 10 anos, a imunologia da doença e a possibilidade de preveni-la por meio de imunização já progrediram bastante. O agente do tracoma pertence ao grupo das bedsônias, parasitos intracelulares que se assemelham às bactérias na estrutura externa e na forma de reprodução. Nenhum método de imunização eficiente foi ainda encontrado contra as bedsônias. O tracoma é doença crônica, recorrente e de longa evolução. Excetuados os casos de cura espontânea, há pouca evidência de imunização natural. Estes estudos e os de outros pesquisadores demonstraram, porém, ser possível prevenir o tracoma no homem e no primata (o único animal de laboratório que desenvolve doenças das conjuntivas) por meio de vacinação, em determinadas circunstâncias. A possibilidade já foi

comprovada em várias experiências. Collier (*Bull Wld Hlth Org*, 1966, 34:233-241) analisou todos os estudos sobre vacina contra o tracoma publicados por diversos laboratórios em várias partes do mundo. Os autores da presente comunicação, sem passar em revista a literatura, discorrem sobre progressos importantes da imunologia do tracoma e a situação atual da sua prevenção. Pode-se afirmar que não existe nem é provável que venha a existir em futuro próximo uma vacina comercial eficiente, que possa servir aos países onde o tracoma é problema grave. No entanto, o rápido progresso da imunologia nos últimos anos autoriza a pensar na possibilidade de que venham a ser fabricadas com subunidades do microrganismo vacinas mais eficazes, de longa duração e sem efeitos secundários adversos.

Immunsation contre le trachome (Résumé)

Bien que l'organisme du trachome n'ait pu être étudié que depuis moins de 10 ans, des progrès considérables ont été enregistrés en ce qui concerne une meilleure compréhension de l'immunologie de la maladie et la mise au point de mesures préventives au moyen de l'immunsation. L'agent du trachome fait partie du groupe d'organismes *Bedsonia*. Ce sont des parasites intracellulaires dont les méthodes de reproduction et les parois cellulaires sont analogues à celles des bactéries. Des méthodes efficaces d'immunsation contre d'autres *Bedsonia* n'ont pas été mises au point. Le trachome est une maladie périphérique qui est chronique, de longue durée et sujette à des rechutes. Sauf pour une guérison spontanée possible, peu d'indices permettent de conclure qu'il existe une immunité naturelle. Malgré ces faits décourageants, ces études et celles d'autres chercheurs ont permis de constater que l'infection du trachome chez l'homme et le singe (le seul animal de laboratoire qui est sujet à des affection conjonctivales) peut être enrayerée dans certaines conditions au moyen de vaccins du

trachome. Un certain nombre d'expériences infructueuses ont également été enregistrées. Toutes les études parues sur le vaccin du trachome qui proviennent de différents laboratoires dans le monde ont fait l'objet d'un examen critique par Collier (*Bull Wld Hlth Org*, 1966, 34:233-241). Le présent rapport ne passera pas en revue les travaux publiés mais examinera certains des progrès importants réalisés dans les connaissances concernant l'immunologie du trachome et la situation actuelle dans le domaine de la prévention. On peut affirmer qu'un vaccin commercial efficace, qui pourrait être utilisé dans les pays en voie de développement où le trachome présente un problème sérieux, n'existe pas à l'heure actuelle et qu'il ne semble pas probable qu'un tel vaccin sera mis au point dans le prochaine avenir. Toutefois, les progrès rapides réalisés au cours des dernières années dans le domaine de l'immunologie permettent d'espérer que l'on pourra préparer à partir de sous-éléments de l'organisme entier des vaccins efficaces et de longue durée sans effets hypersensitifs peu souhaitables.