

ESTUDIO SOBRE EL VIRUS DE LA VACUNA ANTIVARIOLICA  
CULTIVADO EN TEJIDOS. SU APLICACION EN  
LA ELABORACION DE UNA VACUNA\*

INTRODUCCION

DR. CARLOS CAMPILLO S.

---

**N**O EXISTEN DATOS HISTÓRICOS exactos para reconstruir el origen de ninguna de las cepas del virus de la vacuna antivariólica de que se dispone en la actualidad. Es posible que el virus de la viruela bovina que Jenner (1798) por primera vez usó para evitar la viruela humana, se haya contaminado con el agente etiológico de esta enfermedad. En efecto, durante los años que siguieron a la genial observación del médico inglés, cuando la variolización era todavía práctica corriente; es verosímil suponer que a consecuencia de la mezcla de dos virus afines haya surgido un tercero con propiedades intermedias.

Así, al lado de los virus de la viruela humana y bovina se considera en la actualidad el virus de la vacuna antivariólica, como una entidad distinta. Con el nombre "virus de vaccinia" algunos autores suelen designarlo. La expresión tomada de la lengua inglesa, resulta poco feliz en nuestro idioma; por lo que en las líneas subsecuentes se hablará del virus de la vacuna antivariólica o simplemente del virus de la vacuna.

Los primeros en cultivarlo en tejidos, que mantenían viables dentro de gotas de plasma suspendidas, fueron Steinhands, Israeli y Lambert (1913). Posteriormente, Rivers, Li y colaboradores (1929) en tejidos de embriones de pollo suspendidos en solución de tyrode, trataron de demostrar la multiplicación del virus y la presencia de cuerpos de inclusión intracelulares. Estos últimos, fueron vistos y descritos por primera vez por Buist (1887) y Paschen (1906) y años más tarde, por Gordon (1937).

\* Leído en la sesión ordinaria del 22 de octubre de 1958.

Nota: Los estudios que aquí se presentan sirvieron de base para la tesis recepcional de la Dra. Ana María Negrete Martínez.

Goodpasture, Woodruff y Buddingh (1932) encontraron que el virus de la vacuna se puede cultivar en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo. Posteriormente (1935), el método fué empleado por ellos mismos y por otros autores (Irons, 1939), en la preparación experimental de vacuna para aplicación en seres humanos. Sin embargo, todos los estudios mencionados líneas arriba, tuvieron necesariamente la limitación técnica que les imponía el desconocimiento de los nuevos métodos de cultivo de tejidos, introducidos a la virología hace apenas unos años, en 1949, por Enders y colaboradores.

La aplicación de estos métodos, con el fin de obtener nuevos datos sobre el comportamiento del virus de la vacuna antivariólica en cultivo de tejidos, constituye el objeto del presente trabajo.

### EXPERIMENTACIÓN

#### I. *Susceptibilidad de distintos tejidos al virus de la vacuna. Acción citopatogénica.*

*Virus.* En todos estos estudios se utilizó la linfa glicerizada de ternera que prepara el Instituto de Higiene correspondiente al lote 30x. Después de eliminar con antibióticos la contaminación bacteriana, el material recibido se inoculó a la dosis de 0.1 c.c. por cada tubo de cultivo. La suspensión inoculada representaba 100 dosis infectantes, medidas por escarificación en la piel del conejo.

*Tejidos.* Se ensayaron los siguientes: piel y músculo de embriones de bovino recogidos al tercero o cuarto mes de la gestación; piel y músculo de embriones humanos; células amnióticas humanas; riñón de conejo; membranas corioalantoideas de embriones de pollo y pato, incubados por diez a doce días y células HeLa.

*Métodos.* La piel y músculo de embriones humanos y bovinos, se cultivaron en tubos rotatorios según la técnica de Enders (1952). Los riñones de conejo y las células amnióticas humanas, se cultivaron por tripsinización siguiendo en términos generales los métodos propuestos por Youngner (1954). Las células HeLa empleadas, fueron las que mantiene cultivadas en serie el Laboratorio de Virus con los métodos habituales.

En todos los casos el medio nutritivo estuvo constituido por: líquido de Hanks (70%); hidrolizado de lactoalbúmina al 2.5% (20%); suero de caballo inactivado (10%); penicilina 100 U/c.c.; estreptomycin 100 mg./c.c. y micostatín 50 U/c.c.

El pH se ajustó a 7.3 con una solución amortiguadora de bicarbonato de sodio. Se practicaron cambios periódicos del líquido nutritivo con objeto de conservar los tejidos en buenas condiciones.

Por lo general los cultivos mostraron crecimiento satisfactorio entre el sexto y octavo días, momento en que, previo cambio de medio nutritivo, fueron inocu-

lados con la dosis ya señalada. A continuación se pusieron a rotar a la temperatura de 37°C. y se observaron diariamente.

Los líquidos procedentes de los tubos cuyos tejidos manifestaron alteraciones imputables al virus, se retiraron a intervalos regulares. Con el fin de demostrar la presencia de virus activo, dichos líquidos se usaron para inocular nuevos tubos de cultivo, embriones de pollo por vía corioalantoidea y conejos por escarificación dérmica.

La identidad del virus se estableció mediante pruebas de neutralización "in vitro" con antisueros conocidos.

*Resultados.* Todos los tejidos utilizados revelaron la serie de alteraciones correspondientes al efecto citopatogénico producido por el virus de la vacuna.

Por lo general los primeros cambios se observaron entre las 24 y 48 horas después de la inoculación.

A la simple inspección microscópica con pequeño aumento, las células atacadas se aprecian aumentadas de tamaño tal como si estuvieran hinchadas, pierden el contacto entre ellas y exhiben múltiples núcleos y vacuolas intracitoplásmicas. En una etapa más avanzada, las células en disgregación, se observan totalmente llenas de granulaciones, apelonadas y redondeadas. Por último, se fragmentan y desintegran terminando por desprenderse de las paredes del tubo, donde sólo quedan algunos restos celulares.

En el cuadro número 1 se muestra la susceptibilidad de los distintos tejidos estudiados.

CUADRO NÚM. 1

TEJIDOS QUE SE ENCONTRARON SUSCEPTIBLES A LA ACCION  
DEL VIRUS DE LA VACUNA

TEJIDOS ESTUDIADOS	APARICION DE LOS PRIMEROS CAMBIOS (horas de inoculación)	DESTRUCCION TOTAL DEL TEJIDO (días de inoculación)
Piel embrión humano . . . . .	48	4
Músculo embrión humano . . . . .	48	4
Piel embrión bovino . . . . .	24	3
Músculo embrión bovino . . . . .	48	4
Células amnióticas humanas . . . . .	72	8
Riñón de conejo . . . . .	24	3
Células HeLa . . . . .	48	5

Habitualmente este proceso se lleva a cabo de la periferia al centro, entre el primero y décimo día, según el tejido empleado.

Se encontró que los cultivos de riñón de conejo y piel de embrión de bovino fueron los primeros en manifestar los cambios de referencia, puesto que estos principiaron a observarse a las 24 horas alcanzando sus etapas finales 72 horas después de la inoculación.

En los cultivos de células amnióticas humanas el proceso requirió más tiempo.



FIG. 1. Tejido normal de riñón de conejo cultivado.

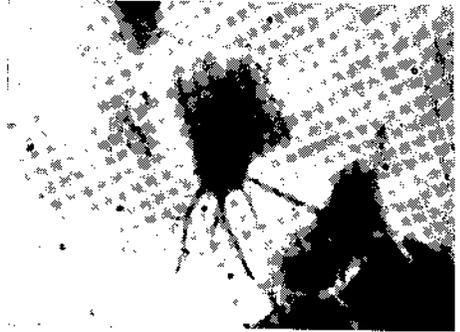


FIG. 2. Se pierde la unión entre las células. Algunas de éstas emiten prolongaciones muy visibles.



FIG. 3. Se distingue muy claramente la separación entre endoplasma y ectoplasma. Se observan células multinucleadas y vacuoladas.



FIG. 4. Hay inclusiones celulares de gran tamaño. La presencia de vacuolas y la abundancia de fibrillas extra e intracelulares, dan a la preparación una fisonomía característica.

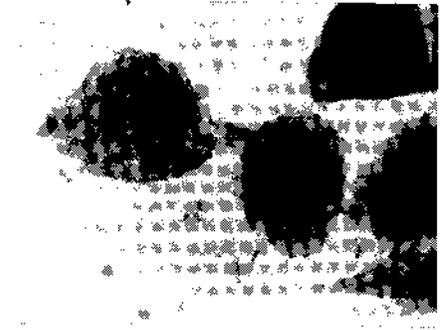


FIG. 5. Células voluminosas, en las que se ven vacuolas, inclusiones y múltiples núcleos

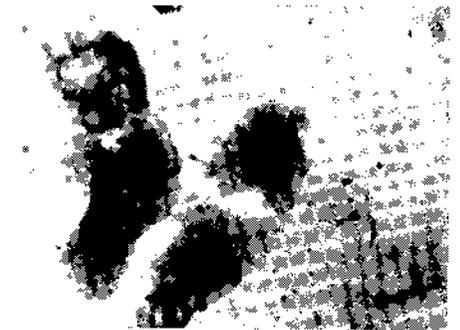


FIG. 6. Imagen que muestra las etapas finales de la degeneración celular.

En todos los cultivos se hizo evidente la disminución en la producción de ácido, debida a los cambios metabólicos del tejido. En efecto, se observó que los tubos inoculados tenían un  $pH$  promedio de 7.2 mientras que en los cultivos no inoculados era de 6.6.

Los cambios citopatogénicos observados en las preparaciones teñidas, se muestran en las figuras correspondientes.

Finalmente, con los líquidos recogidos fué posible reproducir los cambios citopatogénicos en los tejidos, así como provocar lesiones características en las membranas corioalantoideas de embriones de pollo y en la piel escarificada de los conejos.

Las pruebas de neutralización permitieron atribuir los cambios anteriores, a la acción específica del virus de la vacuna.

## II. *Titulaciones.*

Se juzgó conveniente practicar titulaciones en los tejidos que se mostraron capaces de soportar la propagación del virus de la vacuna. De esta manera se podía averiguar más a fondo si los cambios observados eran reproducibles en serie; al mismo tiempo que se obtenía cierta información sobre la sensibilidad comparativa de los distintos tejidos.

Se descongelaron dos ampulas del virus empleado en estos estudios para preparar con ellas diluciones progresivas desde 10-1 hasta 10-8 en solución salina. Con cada dilución se inocularon seis tubos a la dosis habitual de 0.1 ml. Las lecturas de los mismos se hicieron diariamente anotando los cambios citopatogénicos observados.

Los títulos respectivos se calcularon de acuerdo con el método de Reed y Muench (1938). En todas las experiencias se incluyeron sistemáticamente tubos normales que sirvieron como testigos del tejido.

Para interpretar mejor los hallazgos anteriores, se juzgó también conveniente practicar titulaciones similares en embriones de pollo y pato, dado que la inoculación de éstos por vía corioalantoidea constituye el método de elección para efectuar el aislamiento del virus de la viruela y de la vacuna. Con esta finalidad se tomaron embriones de pollo y pato incubados a 37°C. durante 12 días. Se inocularon por vía alantoidea y corioalantoidea.

Para cada dilución se emplearon seis huevos embrionados, cada uno se inoculó con 0.2 c.c. de la suspensión, incubándolos después a 35°C. Se observaron diariamente en el ovoscopio, para descartar los embriones muertos, cosechando los vivos al tercer día. En cajas de Petri estériles se recolectaron las membranas corioalantoideas, que se colocaron sobre un fondo oscuro para facilitar la cuenta de vesículas.

El título se expresó por el número de unidades infectivas, calculando el promedio de vesículas en las membranas inoculadas con la misma dilución.

En el cuadro número 2 se muestra el título promedio de las seis titulaciones practicadas en cada tejido y en los embriones.

CUADRO NÚM. 2

TITULACION DE UNA CEPA DE VIRUS DE LA VACUNA EN CULTIVO DE TEJIDOS Y EN HUEVOS EMBRIONADOS

Piel de embrión humano .....	10-6 *
Músculo de embrión humano .....	10-5
Piel de embrión de bovino .....	10-7
Músculo de embrión de bovino .....	10-5
Células amnióticas humanas .....	10-6
Riñón de conejo .....	10-8
Membranas corioalantoideas de embriones de pollo .....	10-5
Membranas corioalantoideas de embriones de pato .....	10-5
Células HeLa .....	10-7
<hr/>	
Embriones de pollo inoculados por vía corioalantoidea .....	10-8
Embriones de pollo inoculados por vía alantoidea .....	10-8
Embriones de pato inoculados por vía alantoidea .....	10-7

\* Cada una de estas cifras corresponde al promedio de 6 titulaciones.

Es de notarse que los títulos más altos (10-7; 10-8) corresponden a los cultivos de riñón de conejo y piel de embrión de bovino los que son comparables a los obtenidos en los embriones de pollo.

Por otra parte llama la atención que los cultivos de membrana corioalantoidea dieron títulos más bajos que los obtenidos al inocular el embrión en esa misma membrana o en la cavidad alantoidea.

### III. Producción del virus.

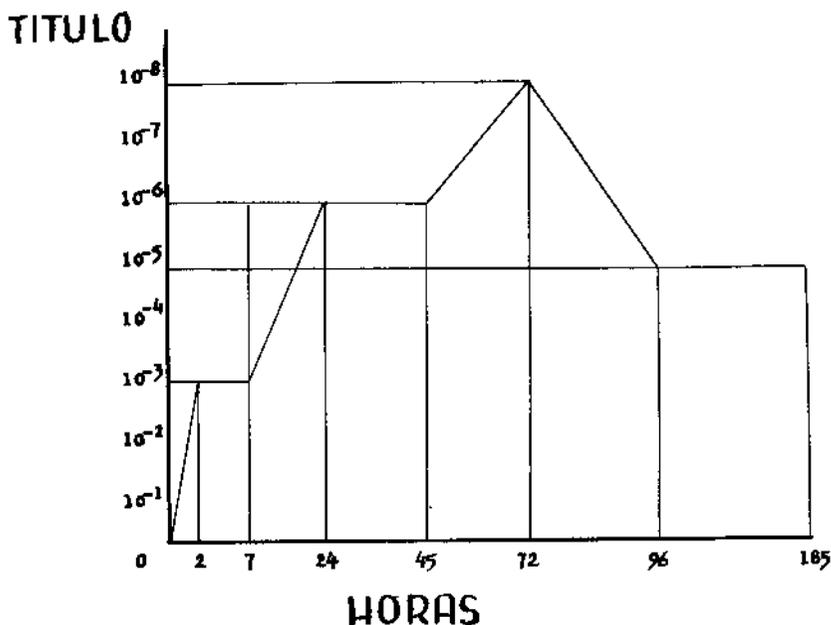
Para llevar al cabo este estudio se utilizaron cultivos de riñón de conejo en frascos Roux los cuales fueron inoculados con 6 c.c. de una dilución de 10-2 del virus de la vacuna empleado.

Una vez inoculados los tejidos se incubaron a 37°C. durante dos horas, al cabo de las cuales se extrajo el líquido y se lavaron 3 veces con una solución de Hanks neutralizada; después de esto se repuso el medio nutritivo y nuevamente se incubaron a la misma temperatura. Se tomaron muestras del líquido para ser tituladas en cultivo de tejidos; a las 0, 2, 7, 24, 48, 72, 116 y 185 horas después de haberse lavado el tejido.

En la gráfica número 1 se muestra los resultados obtenidos en esta prueba.

Dos horas después de la inoculación se encontró un título de 10-3, que se mantuvo sensiblemente igual a las siete horas. A las 24 horas, coincidiendo con la aparición de los primeros cambios citopatogénicos, la concentración de partículas liberadas al medio de cultivo, aumentó mil veces. No hubo alteración del

## GRAFICA



NOTA: Los títulos se expresan en T.C. D50 en cultivos de riñón de conejo.

título durante las 24 horas subsecuentes; pero a partir de las 48 horas se registró una elevación paulatina que a las 72 horas alcanzó la cifra máxima de 10-8. En este momento la destrucción celular era completa. La curva acusó un descenso pronunciado entre las 72 y 96 horas, y enseguida, la presencia de una meseta extendida hasta las 185 horas que fué el último punto de referencia considerado.

#### IV. Preparación de una vacuna antivariólica.

De los estudios que se hicieron se desprenden numerosas aplicaciones. En el Laboratorio de Virus de la Secretaría de Salubridad y Asistencia se exploró la elaboración de una vacuna antivariólica en cultivo de tejidos sobre la cual deseo informar a ustedes de una manera preliminar. Con esa finalidad se escogió el riñón de conejo tanto porque puede cultivarse regularmente por tripsinización, como por las grandes cantidades de virus que se obtienen a partir de los cultivos inoculados. Por otra parte, el conejo es un animal barato, fácil de conseguir y manejar en el laboratorio. Todas esas circunstancias indicaban que el riñón de conejo constituiría un material muy apropiado para elaborar con él regularmente en gran escala, una vacuna antivariólica de potencia elevada.

Se seleccionaron animales sanos y vigorosos. Los riñones fueron tratados con la técnica habitual de tripsinización y las células sembradas en frascos de Roux de 60 ml., con el medio de crecimiento ya mencionado. Una vez hecha la inoculación, la concentración de suero de caballo se redujo al 2%. Como inóculo se empleó linfa de ternera con título no inferior a  $10^{-8}$  determinada en la piel del conejo. Las botellas se inocularon cuando los cultivos eran satisfactorios y habían alcanzado buen desarrollo; cosechándose el líquido 72 horas después. Este último se congeló mientras se hacían las pruebas de inoculación y potencia correspondientes.

El rendimiento que proporciona un conejo es de 350 a 400 c.c. de vacuna; o sea más o menos igual al que se obtiene de una ternera.

El producto final es un líquido transparente, de color rosado, homogéneo y fué envasado en capilares como la vacuna clásica. Debe llenar los siguientes requisitos:

- 1) Ser bacteriológicamente estéril.
- 2) Ser inocuo para ratones y cobayos inoculados por distintas vías, y
- 3) Tener un título no inferior a  $10^{-8}$  en la membrana corioalantoidea del pollo y en cultivos de riñón de conejo, sobre cuya piel debe producir lesiones confluentes cuando se diluye al 1:1 000.

Diez lotes experimentales que han sido preparados en el Laboratorio de Virus de la Secretaría de Salubridad, llenaron tales requisitos. Por tanto, con dos de ellos se decidió hacer una prueba preliminar de campo en 102 niños que no habían sido vacunados. Se siguió la técnica de multipuntura practicada por personal experimentado; las lecturas se hicieron a los 8 días de la vacunación, habiéndose obtenido en total 95 prendimientos primarios, lo que representa un porcentaje del 93%. No se presentaron reacciones de intolerancia.

Estudios adicionales sobre este producto se encuentran todavía en curso y serán objeto de otra comunicación.

#### COMENTARIO

De los estudios realizados se desprende que el virus de la vacuna antivariólica se propaga fácilmente en cultivo de tejidos distintos por su naturaleza y procedencia.

Si se considera que el virus de la vacuna antivariólica y el de la viruela pertenecen al mismo grupo, que ambos son extraordinariamente parecidos y que tienen, con ligeras variantes, el mismo espectro patogénico en los animales; es muy probable que su espectro patogénico "in vitro" sea también análogo en especificidad y amplitud.

Muy restringido, es por el contrario el del virus variceloso, capaz únicamente de multiplicarse en los tejidos de los seres humanos y de los primates. Por sí sola

esta característica diferencial, es susceptible de utilizarse en el esclarecimiento de diagnósticos etiológicos. La urgencia con que se plantean estos últimos, en la práctica, demandan su resolución dentro del plazo más breve posible. Resulta entonces de inestimable valor, a la vez que relativamente sencillo, inocular cultivos de riñón de conejo, los que, en caso positivo, irán a mostrar las alteraciones citopatogénicas específicas 24 horas después. Conviene recordar que en los embriones de pollo, inoculados por vía corioalantoidea, las lesiones no aparecen antes de 72 horas.

Ahora bien, al comparar la susceptibilidad de los distintos tejidos entre sí, con los embriones de pollo y pato, se encontró que los cultivos de riñón de conejo y los embriones de pollo, la revelaron en grado máximo y por igual, ya que el virus alcanzó en ellas un título de  $10^{-8}$ . En un trabajo reciente, Cutchins y Warren (1958) informan que la sensibilidad de los cultivos de riñón de mono, es todavía mayor.

Estos autores también insisten en la respuesta más regular que proporcionan los cultivos de tejidos respecto de los embriones de pollo; por lo cual estiman que debe preferirse a aquéllos para la titulación de vacunas y en general, siempre que sea necesario efectuar determinaciones cuantitativas del virus o de los anticuerpos neutralizantes específicos.

Acerca de la mayor susceptibilidad que mostraron los embriones de pollo "in vitro" en relación con la de sus propias membranas corioalantoideas, sometidos a cultivo, no se dispone de una explicación satisfactoria que, tal vez pudiera encontrarse analizando la dinámica de la infección en ambos sistemas. Es posible que la inactivación de las partículas infectantes del virus, liberadas en distintos ciclos reproductivos, sea mayor en el medio de cultivo que en el embrión mismo. Los fenómenos de autointerferencia también podrían tener participación.

La preparación de una vacuna antivariólica valiéndose de las técnicas modernas de cultivo de tejidos, está llamada a subsistir a los métodos que actualmente se ponen en práctica con el mismo propósito. Reconoce como antecedente un intento similar hecho por Wesslen (1956) en Suecia, con cultivo de células suspendidas en embrión de bovino. El método que aquí se propone es más sencillo, técnicamente, mejor controlado y su rendimiento superior. Su esterilidad bacteriana, la extraordinaria facilidad técnica de su elaboración y la rapidez con que pueden prepararse grandes cantidades, aunado al costo tan reducido que representa: son otras tantas ventajas que este producto ofrece sobre la linfa clásica de ternera. En cada uno de estos aspectos, se compara también favorablemente, con las vacunas producidas en embrión de pollo, a excepción de la esterilidad bacteriana que comparte con ellas.

Dado que la vacuna elaborada en tejidos, sólo contiene proteínas extrañas en mínima proporción, no cabe esperar que se produzcan reacciones de intolerancia como las que se registran entre las personas alérgicas a las proteínas del

huevo que reciben las vacunas avianizadas. Su potencia evaluada en el laboratorio y en la prueba preliminar de campo a que fue sometida, fue satisfactoria; pero estudios más amplios son necesarios en el futuro, para confirmar este punto.

#### RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. El virus de la vacuna se pudo cultivar en los siguientes tejidos: piel y músculo de embriones de bovino; piel y músculo de embriones humanos; células amnióticas humanas; riñón de conejo; membranas corioalantoideas de embriones de pollo y pato y células HeLa.

2. En todos los tejidos enumerados dió lugar a la misma serie de alteraciones, siendo los primeros en manifestarlas, los cultivos de riñón de conejo y piel de embrión de bovino.

3. Como un hecho constante se observó la presencia de grandes vacuolas, inclusiones intracitoplasmáticas y abundantes células polinucleadas en las preparaciones teñidas.

4. Los hallazgos anteriores, autorizan a preconizar el uso de las técnicas de cultivo de tejidos con fines diagnósticos y en la práctica de encuestas serológicas. Siendo de notarse que la sensibilidad del cultivo de riñón de conejo, en particular, es comparable a la inoculación del embrión de pollo en la membrana corioalantoidea.

5. Hay un paralelismo entre la curva de producción de virus en células renales de conejo y los cambios degenerativos; alcanzando ambos su máximo a las 72 horas de inoculados los tejidos.

6. Atendiendo a las ventajas que presenta se escogieron los cultivos de riñón de conejo para preparar una vacuna antivariólica.

7. Por la simplicidad de su elaboración, bajo costo y extraordinario rendimiento, este producto presenta ventajas indiscutibles sobre las vacunas antivariólicas de otro origen, de que se dispone en la actualidad. Asimismo hay razones para suponer que es inocua para los seres humanos.

8. Las pruebas de potencia realizadas en el laboratorio, fueron satisfactorias. Sus resultados fueron corroborados por una prueba preliminar de campo que se hizo en 102 individuos no vacunados. El porcentaje final de prendimientos primarios fué de 93%.

NOTA: Se agradece al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General, y en particular, al Dr. Ruy Pérez Tamayo y colaboradores, así como al Dr. Ignacio Sánchez Bravo, Director del Centro de Adiestramiento de Salubridad y Asistencia, la colaboración que prestaron para este trabajo.

## REFERENCIAS

1. Bcneideck, L., Kempe, H. *Effect of vaccinia on cells grown in tissue culture*. Soc. Exp. Biol. Med. 82: 520-523, 1953.
2. Buist, J. B. (1886). Citado por S. P. Bedson. *Virus and Rickettsial*. Edward Arnold, publishers, L.T.D., 1950.
3. Cutchins, E., Warren, J. *Comparative susceptibility of cell cultures to vaccinia virus. Application to the standardization of smallpox vaccine*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97: 456-461, 1958.
4. Enders, J. F., Weller, T. H. y Robbins, F. C. *Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues*. Science, 109: 85-87, 1949.
5. Goodpasture, E. W., Buddinght, G. J., Richardson, L., y Anderson, K. *The preparation of antismallpox vaccine by culture of the virus in the chorio-allantoic membrane of chick embryos, and its use in human immunization*. Am. Jour. Hyg., 21: 319-350, 1935.
6. Gordon, M. *Virus bodies. John Buist and the elementary bodies of vaccinia*. Edinburg., Med., J., 44: 65-71, 1937.
7. Irons, J. V., Sullivan, F. D., Cook, E. B. M., Cox, G. M., y Hale, R. A. *Our break of Smallpox in the lower Rio Grande Valley of Texas in 1949*. Am. Jour. of Public Health. 43: 25-30, 1953.
8. Jenner, E. 1798. *An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae, a disease discovered in some of the western counties of England, particularly Gloucestershire, and known by the name of the cow pox*. Reprinted by Cassell and Company, Limited, 1896.
9. Paschen, E. *Was wissen wir Überden Vakzineerreger?* Münch. Med. Wehnschr., 53: 2391-2393, 1906.
10. Reed, L. J., y Muench, H. *A simple method of estimating fifty per cent end-points*. Am. Jour. of Public Health., 27: 493-497, 1938.
11. Rivers, T. M. *Smallpox and vaccinia. Viral and Rickettsial Infection of man*. 423-435, 1952.
12. Ryden, F. W., y Randall, C. C. *A Study of three strains of vaccinia virus in stable strains of L., L<sub>1</sub>, C-M1 and HeLa*. Am. Jour. Pathol. 33: 293-311, 1957.
13. Steinhands, E. C., Israeli, Lambert, R. A. *Studies on the cultivation of the virus of vaccinia*. J. Infect. Dis., 13: 294-342, 1913.
14. Wesslen, T. *The production of smallpox vaccine in tissue culture of bovine embryonic skin*. Arch. Ges-Virusforsch. 5: 430-438, 1956.
15. Youngner, J. S. *Monolayer Tissue Cultures. I. Preparation and Standardization of Suspensions of Trypsin-Dispersed Monkey kidney cells*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 81: 208-213. 1952.

“ESTUDIO SOBRE EL VIRUS DE LA VACUNA ANTIVARIOLICA  
CULTIVADO EN TEJIDOS. SU APLICACION EN LA  
ELABORACION DE UNA VACUNA”\*

COMENTARIO AL TRABAJO DEL DR. CARLOS CAMPILLO

DR. MIGUEL E. BUSTAMANTE

**A**UN CUANDO en México no ha habido casos de viruela desde el año de 1955, esta enfermedad continúa siendo causa de defunción en miles de personas en este Continente de América del Sur y en porciones de Africa y Asia.

La Organización Mundial de la Salud, con justicia, ha insistido en su recomendación a todos los gobiernos del mundo sobre la vacuna contra la viruela, que es obligatoria en la mayor parte de los países, con excepción de Inglaterra y Australia, que recientemente tuvieron algunos brotes por los que se les declaró cuarentena a las embarcaciones inglesas y del Continente Europeo.

El hecho, único hasta ahora en la historia de la Biología, de que un virus de enfermedad distinta, como es el virus de la vacuna, produzca inmunidad cruzada para el virus de la viruela e inmunización satisfactoria, ha permitido a los investigadores disponer de un virus atenuado que se puede conservar y cultivar actualmente en tejidos y permite la elaboración de vacuna antivariolosa en condiciones ideales de pureza y excelentes desde el punto de vista de producción y de bajo costo.

El Dr. Campillo Sáenz, en su trabajo, relata en primer lugar sus experimentos para estudiar: Primero: la susceptibilidad de distintos tejidos al virus de la vacuna y su acción citopatogénica. En segundo lugar, las titulaciones de los tejidos en que se propagó el virus de la vacuna y, enseguida, pasó a estudiar

---

\* Leído en la sesión ordinaria del 22 de octubre de 1958.

la producción del virus, basando sus experimentos en el cultivo de los tejidos obteniendo, finalmente, lotes experimentales que preparó en el Laboratorio de Virus de la Secretaría de Salubridad, llenando los requisitos de: esterilidad, inocuidad para ratones y cobayos y, finalmente, con un título no inferior a  $10^{-8}$  en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo y en cultivos de riñón de conejo, sobre cuya piel debe producir lesiones de vacuna confluyente diluído al uno por mil.