

SIMPOSIO

VACUNAS *

I INTRODUCCION

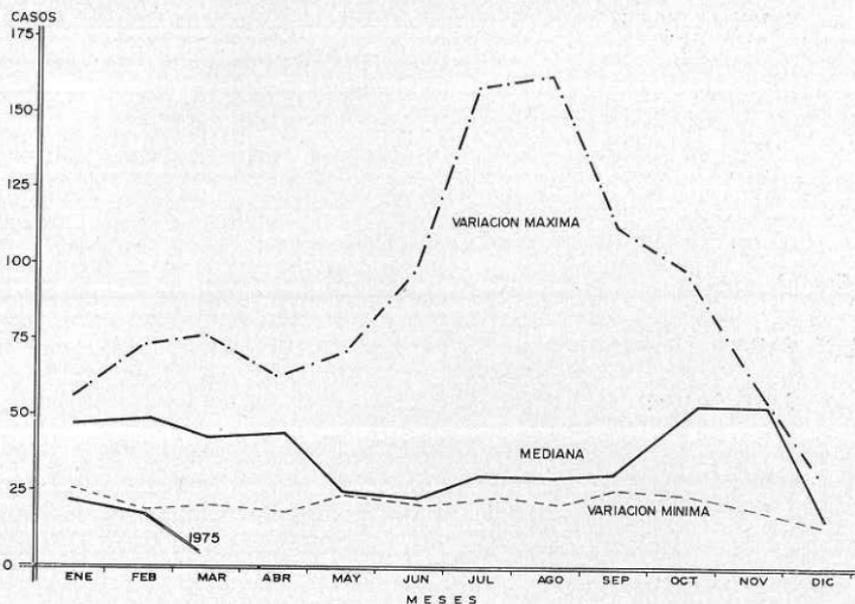
ADOLFO PÉREZ MIRAVETE †

Se ha considerado en forma tradicional que las enfermedades infecciosas dominan preponderantemente la patología de los pueblos o las comunidades pobres, carentes de las facilidades sanitarias que aseguren un nivel higiénico y, en ocasiones, aún se hace gala en discursos políticos de que las enfermedades neoplásicas o degenerativas están predominando sobre las infecciosas como un signo de progreso en una comunidad. Indudablemente que la patología de la pobreza es patología infecciosa, pero también es cierto que ningún pueblo del mundo, por más rico

que sea, se libra de sufrir problemas de esta índole y podemos asegurar que estos se han ido agravando o tomando nuevos matices en los últimos tiempos en todo el mundo. Sirva de apoyo a nuestra aseveración las palabras del Dr. Cluff,¹ presidente de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América en 1973, quien, al comentar la situación en los Estados Unidos de América en ese año, aseguró que el 20 por ciento de todas las consultas realizadas en los consultorios médicos del país son ocasionadas por enfermedades infecciosas. El 80 por ciento de las enfermedades respiratorias son del mismo origen, así como del 25 al 35 por ciento de las afecciones de tegumentos, sistema nervioso, tracto genitourinario y aparato digestivo.

* Presentado en la sesión ordinaria del 2 de julio de 1975.

† Académico numerario. Dirección General de Investigación en Salud Pública. Secretaría de Salud y Asistencia.



1 Índice endémico de poliomiélitis. República Mexicana (1968-1974). Fuente: Cuadro No. 2, D.G.S.C. de S.P. en los estados.

En cuanto al impacto económico, que sí es importante en los Estados Unidos de América tiene aún mayor interés en países con insuficientes recursos económicos destinados a la salud, como el nuestro, son de considerarse las inversiones que en atención médica y hospitalaria exigen las enfermedades infecciosas. Por ejemplo, la epidemia de influenza que afectó al territorio de E.U.A. y al nuestro en 1968-1969 costó a aquel país en gastos de atención médica 2 500 millones de dólares,¹ lo que equivaldría al ingreso total del gobierno federal de México durante 5 meses. La epidemia de rubeola de 1964-1965, además de dejar 20 000 niños con lesiones congénitas, costó 842 000 días-

cama en hospitales, 3.5 millones de días de trabajo perdidos, así como 14.4 millones de días de ausentismo escolar. El cálculo aproximado de pérdidas económicas de esta epidemia fue de 1 500 millones de dólares.

Haciendo un cálculo muy aproximado, podríamos considerar que la reducción a 147 casos de poliomiélitis observados entre 1972 y 1973 ahorró a nuestro país más de \$ 17 350 000 en atención y rehabilitación (\$ 50 000 anuales por caso) y en cambio la vacuna costó menos de \$ 2 500 000, la estimación hecha sobre el costo del producto biológico.

No queremos insistir demasiado en apreciaciones de índole económica, ya que las pérdidas en aspectos humanos, difíciles de cuantificar, son en ocasiones más importantes; pero estos datos nos

pueden auxiliar para tener una apreciación más exacta de lo redituable que resultan las actividades tendientes a prevenir los fenómenos morbosos, entre los cuales resaltan la producción y utilización de los agentes biológicos inmunizantes.

Cluff¹ mismo asegura, y nos adherimos a su opinión, que son muchos los beneficios que debemos a la inmunología en estas últimas épocas de enorme desarrollo de esta disciplina; pero ninguna es comparable a la que nos ofrece con su aplicación en el control y prevención de las infecciones como medio de conservar la salud humana.

Las drogas antimicrobianas, cuyo uso es costoso, ni han eliminado ni parece que eliminarán las enfermedades microbianas; ya hemos visto cómo en los últimos tiempos se han presentado circunstancias originadas, tanto por características intrínsecas de los agentes infecciosos, como por aspectos socioculturales en la población humana que han nulificado los progresos que se habían logrado en relación con la eliminación de las enfermedades infecciosas por el uso de antibióticos y otros agentes antimicrobianos. El incremento de infecciones intrahospitalarias, los brotes epidémicos causados por microorganismos resistentes y el aumento de las enfermedades venéreas han llevado a la conclusión de que las drogas antimicrobianas, tan útiles en reducir la morbilidad y la mortalidad en muchos procesos infecciosos, al no prevenir la infección, no evitan la persistencia de éstas en las comunidades humanas y dejan sin resolver el problema básico de las enfermedades transmisibles.

Por ello se han vuelto los ojos nuevamente hacia los agentes biológicos pre-

ventivos y en una etapa de revaloraciones como la que estamos viviendo, se asoma ya una nueva aurora para la inmunoprofilaxis en la que quizá veamos erradicar procesos infecciosos tan temibles como lo fuera la viruela cuyas áreas de prevalencia se han reducido, a base de inmunizaciones, a unos cuantos rincones en el mundo.

En nuestro país, la actual administración se ha distinguido por los recursos que se han destinado a la inmunización masiva de la población, particularmente la infantil y se han estimulado la producción y aplicación de los agentes biológicos inmunizantes.

Las campañas de gran cobertura que se han realizado en los últimos 3 años permiten augurar un descenso importante en la morbilidad y mortalidad de las enfermedades infecciosas prevenibles por los agentes empleados: descenso que en forma dramática ya se ha podido contemplar en el caso del sarampión donde, comparada la morbilidad y mortalidad entre 1966 y 1974, se puede observar una reducción del 97.1 por ciento² en la primera y 73.5 por ciento² en la segunda, semejante a la observada en los Estados Unidos de América en 1968³ cuando fue introducida la vacuna (cuadro 1).

Cuadro 1 Morbilidad y mortalidad por sarampión. República Mexicana, 1966-1974

Morbilidad			Mortalidad		
Año	Tasa *	% de reducción	Año	Tasa *	% de reducción
1966	123.2		1966	18.2	
1974	3.6	97.1	1973	4.8	73.5

* Por 100 000 habitantes.

Cuadro 2 Morbilidad y mortalidad por poliomielitis. República Mexicana, 1966-1974

Años	Morbilidad		Mortalidad	
	Casos	Tasa	Defunciones	Tasa
1966	1 024	2.3	206	0.5
1967	648	1.4	211	0.5
1968	846	1.8	224	0.5
1969	413	0.8	185	0.4
1970	1 232	2.5	275	0.6
1971	980	1.9	235	0.5
1972	390	0.9	369	0.7
1973	243	0.4	159	0.3
1974	260	0.4	—	—

Fuente: *Sec. de Proc. de Datos de la Dirección de Planificación y Evaluación de la D.G.S.C. de S.P. en los Estados.*

Por 100 000 habitantes.

De igual manera puede constatarse el impacto de las campañas de vacunación de 1973 y 1974 en la reducción de la morbilidad en poliomielitis parálitica y de la tos ferina (cuadros 2, 3 y 4) (figura 1).

Esta reunión tiene el propósito de revisar los progresos que se han logrado en la prevención de las enfermedades infecciosas con agentes inmunizantes hasta el presente y lo que podemos esperar en un futuro cercano. Para ello hemos invitado al Dr. Geoffrey Edsall cuyo historial en el campo de la producción y empleo de biológicos garantiza una exposición documentada de lo logrado, así como una visión clara de las posibilidades y alcances futuros.^{4, 5} Hemos encomendado al doctor Jorge Olarte la revisión del trabajo experimental desarrollado con la intención de obtener mejores vacunas entéricas, no sólo por aprovechar sus conocimientos amplios sobre estos micro-

organismos y las enfermedades por ellos producidos, sino también porque es en este campo donde se han intentado aplicar los progresos de la genética de microorganismos para el logro de variantes microbianas más útiles en la producción de agentes aplicables a la inmunización activa contra procesos infecciosos.⁶⁻¹¹ El Dr. Bojalil, a quien también hemos comprometido a colaborar en este simposio, nos hablará de vacunas elaboradas con fracciones subcelulares y, en particular, de vacunas ribosomales. Su prolongado interés por estudiar micobacterias ha propiciado que haya seguido los intentos de Youmans,^{12, 13} Johnson,^{14, 15} Thompson¹⁶ y otros investigadores, quienes han trabajado sobre vacunas ribosomales; en su laboratorio se iniciaron las investigaciones de algunos trabajadores mexicanos como Molinari^{17, 18} quienes han desarrollado vacunas de este tipo con *Salmonella typhimurium* y *Salmonella typhi*, con posibilidades de empleo en el humano.

El doctor George Hottle, hará una evaluación de las vacunas virales actualmente en uso y de aquéllas que recientemente se han desarrollado. Su experiencia en el servicio de salud pública de los Estados Unidos le ha dado oportunidad

Cuadro 3 Morbilidad y mortalidad por poliomielitis. República Mexicana, 1966-1974

Año	Morbilidad		Año	Mortalidad	
	Tasa *	% de reducción		Tasa *	% de reducción
1966	2.3		1966	0.5	
1974	0.4	82.6	1973	0.3	40.0

* Por 100 000 habitantes.

Cuadro 4 Morbilidad y mortalidad por tos ferina, República Mexicana, 1966-1974

Años	Morbilidad		Mortalidad	
	Casos	Tasa	Defunciones	Tasa
1966	22 256	52.7	3 411	7.7
1967	40 697	89.1	5 178	11.3
1968	24 015	52.4	5 266	11.1
1969	11 057	23.3	3 865	7.9
1970	16 638	33.9	3 458	7.1
1971	27 796	54.7	5 654	11.1
1972	20 399	38.7	4 202	8.0
1973	14 986	27.5	3 584	6.6
1974	8 675	15.3	—	—

Fuente: *Sec. de Proc. de Datos de la Dirección de Planificación y Evaluación de la D.G.S.C. de S.P. en los Estados.*
Por 100 000 habitantes.

de seguir el problema y de valorarlo con el buen juicio y la autoridad de quien ha trabajado asiduamente en el campo.

Por último hemos pedido al Dr. Jorge Fernández de Castro que nos haga una revisión de los logros obtenidos en la producción, control y aplicación de BCG, no sólo porque en nuestro país se ha debatido recientemente el problema a niveles periodísticos, sino porque la experiencia que se ha acumulado en los últimos años bien merece un juicio crítico. El problema del BCG además es bastante ilustrativo en un aspecto que merece toda nuestra atención; me estoy refiriendo a la necesidad de vigilar la buena calidad y la inocuidad de los productos inmunizantes que serán aplicados en las poblaciones humanas. El BCG líquido, tal como se empleó en el mundo hasta la década de los 60 y en México hasta 1970, era un producto que tenía que ser distribuido, dada su inestabilidad, sin que termi-

naran sus pruebas de control, con los consecuentes errores que esta conducta acarrea; ahora, lograda su liofilización, difícilmente dará origen a problemas como los que han servido de argumento para su reciente e injustificada crítica.

En una revisión publicada en 1974²⁰ sobre la inocuidad de las vacunas, Perkins, actualmente jefe de control biológico de la Organización Mundial de la Salud, subraya que "el procedimiento moderno de control de las vacunas ha sentado la pauta para el futuro y, junto a la vigilancia continua y prolongada de las reacciones vacunales del hombre, ha permitido la obtención de vacunas más inocuas".

La necesidad de estos controles estrictos y la reglamentación de la vigilancia, en el seguimiento de normas bien establecidas de producción y control, es la única garantía para contar con agentes biológicos inmunizantes útiles; por ello en nuestro país se ha atendido recientemente a estos aspectos normativos que garantizan el consumo de productos inocuos y de buena capacidad inmunogénica. En estos días se ha terminado y se pondrá en práctica un reglamento de control de biológicos que, siguiendo las orientaciones y recomendaciones de la OMS, dará seguridad al pueblo mexicano de que cualquier agente biológico que se esté empleando en el país cumple con las exigencias de control que la ciencia y la tecnología más modernas recomiendan. La sujeción voluntaria del gobierno de México al control periódico de los productos elaborados en instituciones oficiales, por los centros de referencia internacionales, como se hace con el BCG, las vacunas antirrábicas, la antipoliomielítica y otras, dan una buena idea de los propósitos que

animan a estas instituciones en su tarea de proporcionar los mejores productos.

REFERENCIAS

1. Cluff, L. E.: *Infections diseases: A perspective*. J. Infect. Dis. 129:86, 1974.
2. García-Alvarez, C. y Meda-Silva, G.: *Impacto de las campañas de vacunación masiva sobre el comportamiento de la poliomielitis, sarampión y tos ferina en México*. Presentado en la XXXIII Reunión Fronteriza Mexicana Estadounidense de Salubridad, 1975.
3. Linnemann, C. C.: *Measles vaccines: immunity, reinfection and revaccination*. Amer. J. Epidemiol. 97:365, 1973.
4. Edsall, G.: *Active immunization*. N. Engl. J. Med. 235:298, 1946.
5. Edsall, G.: *Live versus killed bacterial vaccines*. Monograph Allergy. 9:231, 1975.
6. Dupont, H. L.; Hornick, R. B.; Snyder, M. J.; Lebanity, J. P.; Formal, S. B. y Gangarosa, E. J.: *Immunity in shigellosis. II. Protection induced by oral live vaccine in primary infection*. J. Infect. Dis. 125:12, 1972.
7. Fahey, K. J. y Cooper, G. N.: *Oral immunization against experimental salmonellosis. I. Development of temperature sensitive mutant vaccines*. Infect. Immun. 1:263, 1970.
8. Fahey, K. J. y Cooper, G. N.: *Oral immunization in experimental salmonellosis. II. Characteristics of the immune response to temperature sensitive mutants given by oral and parenteral routes*. Infect. Immun. 2:183, 1970.
9. Germanier, R.: *Immunity in experimental salmonellosis. I. Protection induced by rough mutants of Salmonella typhimurium*. Infect. Immun. 2:309, 1970.
10. Germanier, R. y Fürer, E.: *Immunity in experimental salmonellosis. II. Basis for the avirulence and protective capacity of Gal E mutants of Salmonella typhimurium*. Infect. Immun. 4:663, 1971.
11. Kishimoto, Y.: *Live-vaccine immunization in experimental typhoid with a streptomycin-dependent strain of Salmonella enteritidis*. Jap. J. Bacteriol. 20:195, 1965.
12. Youmans, A. S. y Youmans, G. P.: *Immunogenic activity of a ribosomal fraction obtained from Mycobacterium tuberculosis*. J. Bacteriol. 89:1291, 1965.
13. Youmans, A. S. y Youmans, G. P.: *Factor affecting immunogenic activity of mycobacterial ribosomal ribonucleic acid preparations*. J. Bacteriol. 99:42, 1969.
14. Johnson, W.: *Ribosomal vaccines. I. Immunogenicity of ribosomal fractions isolated from Salmonella typhimurium and Yersinia pestis*. Infect. Immun. 5:947, 1972.
15. Johnson, W.: *Ribosomal vaccines. II. Specificity of the immune response to ribosomal ribonucleic acid and protein isolated from Salmonella typhimurium*. Infect. Immun. 8:395, 1973.
16. Thompson, H. C. W. y Snyder, I. S.: *Protection against pneumococcal infection by a ribosomal preparation*. Inf. Immun. 3:16, 1971.
17. Molinari, J. L. y Larralde, C.: *Acquired immunity to murine typhoid induced in mice with fractions of Salmonella typhimurium*. Rev. Lat. Am. Microbiol. 16:189, 1974.
18. Molinari, J. L. y Cabrera, R.: *Inmunidad inducida con una preparación ribosomal obtenida de Salmonella typhi Ty2*. Rev. Lat. Am. Microbiol. 16:199, 1974.
19. Fernández de Castro, J.: *La protección específica en tuberculosis*. Medicina (México). 54:241, 1974.
20. Perkins, F. T.: *La inocuidad de las vacunas*. Bol. Of. San. Pan. 77:433, 1974.

II PRESENTE Y FUTURO DE LA INMUNOPROFILAXIS

GEOFFREY EDSALL *

El desarrollo de las vacunas ha seguido en general dos caminos principales, a sa-

* Jefe del Departamento de Microbiología. Escuela de Higiene y Medicina Tropical. Universidad de Londres.

ber, vacunas atenuadas y vacunas inactivadas, y cabe esperar que las vacunas nuevas o mejoradas se desarrollen también en una de estas dos líneas de progreso.

Cada una tiene sus propias ventajas. Por una parte, una vacuna viva, que se multiplica en el huésped, producirá, en general, una cantidad enorme de antígeno comparada con la que, también en general, puede obtenerse de una vacuna muerta. Es más, por lo regular se asume (aunque sin una prueba convincente) que los antígenos inmunizantes en las vacunas atenuadas, se asemejan más estrechamente a los antígenos de la enfermedad natural, que aquéllos que se obtienen física o químicamente de una preparación inactivada. En forma correspondiente se acepta (tal vez de modo correcto) que una vacuna viva involucra ciertos órganos o tejidos clave en un compromiso que no puede lograrse con una vacuna muerta. Ciertamente éste parece ser el caso con la vacuna poliomiéltica viva atenuada, que establece una barrera contra la infección primaria por poliovirus, en un grado que difícilmente se logra con una vacuna muerta. Finalmente, a juzgar por la experiencia con la vacuna del sarampión puede alcanzarse una inmunidad de larga duración, al menos en algunos casos, con una sola dosis de una buena vacuna viva.

Estas suposiciones no siempre son ciertas: ¡no olvidemos que Jenner creía que la vacuna antivariolosa producía protección para toda la vida! Por otra parte, las vacunas vivas tienen sus desventajas. En primer lugar son relativamente inestables y, a menos que se manejen con gran cuidado, pueden inactivarse y fallar consecuentemente en la producción de la inmunidad que se esperaba. En segundo lugar, existe el riesgo, como con la vacuna antivariolosa, la del sarampión y el BCG, de que produzcan enfermedad severa en individuos con deficiencias in-

munológicas. Tercero, hay siempre un riesgo teórico de que la cepa atenuada empleada en la vacuna pueda revivir al estado virulento, especialmente si se transmitiera de persona a persona. Cuarto, desde el punto de vista químico, una vacuna viva es cruda y contiene todos o casi todos los antígenos de la cepa virulenta; en tanto que se tiene siempre la esperanza de que, con modernas técnicas químicas y físicas, pueda ser aislado un solo antígeno para producir la inmunidad deseada sin imponer una multitud de respuestas adicionales del huésped, muchas de las cuales pueden ser innecesarias.

Esto nos lleva a considerar las ventajas de las vacunas muertas: ellas ofrecen la posibilidad de inmunizar sólo con el antígeno esencial (si es que puede ser identificado); asimismo pueden eliminarse de endotoxinas y otros antígenos que causan reacciones indeseables y que tal vez no contribuyan en nada al proceso de inmunización. Todavía más, nos brindan la posibilidad de concentrar el antígeno inmunizante de manera que pueda ser administrado en dosis mucho mayores a las que ocurren en condiciones naturales, al punto de que la inmunización artificial no sea una mera emulación a la naturaleza sino que la exceda. Dos ejemplos excelentes de este principio son los toxoides diftérico y tetánico; otro es la vacuna de meningococo.

Existen varios enfoques para la producción de vacunas muertas actualmente en desarrollo. Unas nuevas técnicas en el cultivo del microorganismo han revolucionado la situación de la vacuna de la rabia —el paso adelante ha sido dado en el laboratorio de Palo Alto— y en lo que respecta al desarrollo de una vacuna contra la le-

pra, puede decirse que nos hallamos actualmente en el umbral de un importante avance.

Donde no han surgido técnicas mejores, se están usando métodos menos agresivos para inactivar los microorganismos, como la irradiación, o la beta-propiolactona. Esta última no sólo ha conducido a múltiples e impresionantes progresos en vacunas contra enfermedades paralíticas de animales, sino que se encuentra en experimentación con bacterias como *Pasteurella tularensis* y *Salmonella typhimurium*.

La purificación de las vacunas existentes no sólo ha llevado a lograr productos altamente mejorados, menos reactógenos como la de la influenza, sino que ha hecho posible la separación ulterior de subunidades inmunizantes como ha ocurrido con la propia vacuna de la influenza, la de la rabia, las de adenovirus, la hepatitis B y probablemente las de otros agentes infecciosos.

Se están desarrollando técnicas para la purificación de fracciones ribosomales de varias especies bacterianas y micóticas en la esperanza de que esto pueda conducir a lograr vacunas efectivas y bien toleradas; asimismo se están ensayando, como vacunas, esferoplastos de otras especies, como, p. ej. *Vibrio cholerae*. Es demasiado numerosa para mencionarse la serie de vacunas a base de pared celular que se encuentran en estudio, y lo menos que puede esperarse es que estos esfuerzos para obtener paredes celulares menos tóxicas no únicamente tengan éxito, sino que, en algunos casos por lo menos, produzcan antígenos útiles para inmunización humana. De hecho, cada componente de un microorganismo ofrece posibilidades de ser-

vir como agente inmunizante a través de técnicas modernas de purificación, caracterización y concentración, por lo que, en este momento, uno puede únicamente predecir que el futuro será más brillante con respecto a multitud de problemas ordinarios en inmunización.

Una de las posibilidades más intrigantes en este campo general es el antígeno común de las enterobacterias. Aunque a primera vista las probabilidades de que se demuestre su utilidad parecen remotas, el trabajo de McCabe y otros ha demostrado que no puede ser del todo desechado. Se puede especular que si se prepara en concentración suficiente y se refuerza en potencia por medio de un adyuvante adecuado, podría ser eficaz en contrarrestar la infectividad de un número grande de especies bacterianas en las que se encuentra.

Muchos otros problemas en la purificación del antígeno necesario para numerosas enfermedades, están aún sin solución. Los casos fáciles —difteria, tétanos, neumococo— quedaron, en su mayor parte, detrás de nosotros. Pero otros, bastante complejos persisten, como la preparación de una fracción inmunogénica de meningococo tipo B. Tal vez éste será resuelto con el ingenioso recurso de acoplar el antígeno a algún otro bien conocido, por ejemplo el toxoide tetánico, suministrándole así una proteína portadora esencial y obteniendo al mismo tiempo el resultado de dos inmunizaciones en una. Mucho mayores dificultades se confrontan con vacunas contra la tos ferina y la fiebre tifoidea. El bacilo pertussis completo contiene cuando menos 18 antígenos y causa ciertamente marcadas reacciones al inyectarse. Es posible que sea únicamente

uno de estos antígenos el necesario para la inmunización, y algunos estudios emprendidos en Japón y la Unión Soviética sugieren que este antígeno ya ha sido identificado y purificado.

El problema es más complicado con la fiebre tifoidea, y existe una necesidad urgente de estudios sobre la patogenicidad e inmunidad de esta enfermedad antes de que se pueda proceder de manera lógica a desarrollar una vacuna purificada para su control. Se trata de un proyecto importante en vista de la alta reactogenicidad de la vacuna actual y del creciente problema de las cepas resistentes a los antibióticos.

Merecen atención igualmente algunas otras áreas promisorias en el desarrollo de vacunas muertas. Entre estas es particularmente notable la vacuna recombinante —ilustrada por el trabajo de Kilbourne y otros— que tienen el proyecto de fabricar vacunas de influenza que contengan no sólo la necesaria hemaglutinina, sino también la neuraminidasa de la amenazadora cepa epidémica de influenza. Entre otros enfoques hacia mejores antígenos se cuenta por ejemplo, el uso de antígenos específicos derivados de fuentes no relacionadas, como Robbins y sus asociados han propuesto, con un derivado de *E. coli* que inmuniza contra *Haemophilus influenzae* tipo b, más efectivamente que el antígeno de tipo b mismo.

Por último, no se puede terminar la revisión de antígenos inactivados sin mencionar adyuvantes y combinaciones de vacunas.

La búsqueda del adyuvante perfecto no ha conducido a milagros. Sin embargo, parece ahora que aún con las sales de aluminio convencionales y un buen anti-

geno, se puede preparar un toxoide tetánico que dará una buena inmunidad con una sola inyección. No es posible anticipar lo que deparará el futuro, pero el interés en adyuvantes mejorados están tan ampliamente difundido y es tan grande que existe confianza en que los problemas de nuevos adyuvantes —el principal de ellos se refiere a la seguridad— serán resueltos. En relación con esto, las posibilidades de acoplar o de agregar antígenos —procedimientos que en muchos casos tendrán un efecto similar al uso de adyuvantes— pueden solucionar algunos problemas.

Con respecto a combinaciones, ellas dependerán, en primera instancia, de las necesidades; por ejemplo, la vacuna de la fiebre amarilla no debe combinarse con la del sarampión en México, pero tal combinación es útil en África occidental. Secundariamente, la compatibilidad debe ser concienzudamente verificada y, por último, tendrá que establecerse también la tolerancia. Las posibilidades son infinitas y sólo el futuro podrá decir cuál será la combinación de más éxito, ya que se trate de vacunas vivas o de inactivadas.

Esto nos lleva nuevamente a las vacunas vivas. Aparte del constante ingenio de los investigadores, que se mantienen obteniendo nuevas y excelentes vacunas cada año, merecen atención ciertos principios; entre ellos:

a) Recombinación planeada: la mayoría de ustedes, se encuentran familiarizados con el trabajo de Formal y sus colegas sobre la combinación de bacilos *coli* con especies de *Shigella*, a efecto de desarrollar un organismo con los antígenos de *Shigella*, pero con las características de virulencia de una *E. coli* inofensiva. Este

no es sino uno de los muchos posibles ejemplos.

b) Organismos metabólicamente defectuosos: probablemente los más famosos son las cepas de *Shigella* estreptomicino-dependientes usadas para inmunización por Mel, y de *S. typhi*, empleadas por Hornick y sus colegas. Pero las variedades de defectos metabólicos son infinitas, y algunas de ellas seguramente producirán vacunas que perduren e inmunicen.

c) Cepas termo-sensibles: serán especialmente útiles en casos en que puedan multiplicarse localmente, p. ej., en la faringe, pero induciendo inmunidad general. Están en estudio varias vacunas para la inmunización contra el virus sincicial respiratorio, la influenza, el micoplasma y el herpes simple, entre otras.

d) Variantes plasmidio-deficientes: tal es el caso en que un plasmidio específico determina toxicidad o invasividad (como con las cepas de *E. coli* de H. W. Smith, patógenas para lechones) y entonces sería posible inmunizar con derivados idóneos de las cepas carentes de tal factor.

Existen muchas otras vías que conducirán al desarrollo de nuevas vacunas, y algunas antiguas que aún están por explotarse a su máximo. La cepa *E* para la vacuna del tifo parece prometedora y lo mismo puede decirse de ciertas cepas vivas de *Leishmania* que serán probablemente útiles en el control de esta enfermedad. Aún más, hay múltiples posibilidades que surgen de los experimentos de Price y sus colegas, en la inmunización seriada con distintas, pero relacionadas cepas de virus. Este principio ya ha sido ensayado experimentalmente para la influenza, así como para el dengue y varios otros arbovirus.

Otras posibilidades que pueden ampliar la efectividad de la inmunización en el futuro, como los dispositivos para inoculación por rutas no usuales, *verbigracia*, adenovirus con capa entérica suministrados oralmente, y la administración de vacunas muertas seguidas de vivas, que han sido recomendadas por algunos para la polio, han sido desarrolladas recientemente para *Brucella* por Elberg.

No hemos dicho nada en este trabajo acerca de la inmunización contra el cáncer. El tema de la inmunidad en esta enfermedad, en su conjunto, es una especialidad por sí misma, y se puede estar seguro de que la vacunación llegará a jugar un papel importante.

Un aspecto totalmente nuevo relacionado con la inmunización se ha abierto con el descubrimiento de los anticuerpos secretorios IgA, y el descubrimiento de la absorción del antígeno por el intestino. No se trata solamente de vacunas aplicadas a casi todas las enfermedades infecciosas de cualquier superficie epitelial, las que han sido desarrolladas y probadas, sino que también se ha recomendado la inmunización oral contra enfermedades tales como el tétanos. Mucho de este esfuerzo resultará impráctico o ineficaz, pero parte de él rendirá seguramente, en el porvenir, nuevas, mejores y más simples vacunas.

No hay una ruta única hacia el futuro de la vacunación. Muchos nuevos enfoques están ya siendo estudiados y debe recordarse siempre que las mejores ideas son frecuentemente aquéllas que aún no han sido imaginadas. Se ha dicho un poco acerca de los proyectos de investigación que harán más fácil el uso de las vacunas de que ahora se dispone —por ejem-

plo, los estudios que apoyan la esperanza de un toxoide tetánico administrado en una sola dosis; pero se puede asegurar que en el futuro la inmunización será no

sólo simplificada sino menos reactiva, más efectiva, cubrirá mayor número de enfermedades y contribuirá aún más que ahora a preservar la vida y la salud.

III VACUNAS DE FRACCIONES CELULARES

LUIS F. BOJALIL *

Para la elaboración de vacunas se han seguido varios caminos, pero dos de ellos han recibido mayor atención: en primer lugar las vacunas de microorganismos vivos atenuados y en segundo lugar, las vacunas con microorganismos muertos; aparte, desde luego, de algunos productos que también han sido utilizados como inmunógenos, como son por ejemplo, las toxinas o enzimas producidas por organismos.

Como postulado general se ha señalado que los microorganismos vivos se comportan en principio como un inmunógeno más eficiente que los microorganismos muertos; existen muchas hipótesis para explicar las diferencias de comportamiento entre las vacunas vivas y las muertas y, aunque las bases científicas para explicarlas son endeables, se reconoce que este hecho se apoya en la experiencia.

Sin embargo, el uso de vacunas con microorganismos vivos tiene desventajas que a veces son serias: es difícil en el caso de microorganismos gramnegativos preparar vacunas eficientes porque el

componente endotóxico puede comprometer al receptor; en otros casos se corren riesgos de producir enfermedades graves en individuos con deficiencias inmunológicas. Aparte de estos y otros inconvenientes prácticos que tiene el uso de las vacunas tradicionales, siempre se ha pensado que sería mejor utilizar antígenos más simples, es decir, fracciones de microorganismos capaces de producir inmunidad específica dirigida contra el microorganismo invasor o contra sus toxinas. Para la obtención de estos antígenos más "simples" se dio un paso importante al demostrar que los ribosomas de ciertas bacterias son capaces de producir inmunidad, con la misma o mayor capacidad de protección de como lo harían los microorganismos vivos o muertos de donde se derivó el inmunógeno.

Youmans y Youmans (1965),¹ demostraron que las fracciones subcelulares ribosomales obtenidas de *Mycobacterium tuberculosis* inducían inmunidad en ratones; estos animales, una vez inmunizados con ribosomas de bacilo tuberculoso, mostraban un alto grado de protección al ser inculados con una dosis virulenta del microorganismo homólogo.

* Académico numerario. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Cuadro 1 Reacción cutánea en cobayos, a diferentes cantidades de material ribosomal obtenido de BCG

Material	Prueba cutánea		Area de induración (mm ²)				
	Dosis (como proteína) µg	Cobayos sensibilizados con BCG			Cobayos no sensibilizados		
		1 hr.	4 hr.	24 hr.	1 hr.	4 hr.	24 hr.
Fracción ribosomal	1.0	25	64	100	35	16	0
	4.0	56	80	144	49	16	0
	8.0	64	100	210	64	25	0
PPD	1.0	4	16	136	4	0	0
	4.0	4	25	190	4	2	0
Diluyente *	—	4	4	0	4	2	0

* 0.15 M NaCl.

Fuente: Ortiz-Ortiz, L. y col.¹²

Este hecho condujo a investigar la capacidad protectora de los antígenos ribosomales de diferentes especies de bacterias, encontrándose actualmente en la literatura un gran número de trabajos sobre estos aspectos en la mayoría de los cuales se demuestra la capacidad protectora de los antígenos ribosomales de microorganismos tales como *Vibrio cholera*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Neumococos*, *Staphylococcus aureus* y otros.²⁻¹⁰

La naturaleza química del inmunógeno no fue señalada con precisión en los primeros estudios, aunque Youmans¹¹ y más tarde Venneman⁸ sugirieron que el componente inmunogénico era la fracción RNA. Posteriormente, este último autor,⁶ trabajando con *S. typhimurium*, identificó al inmunógeno como un componente polisacárido de elevado peso molecular. Ortiz, Solarolo y Bojalil,¹² aislaron la proteína ribosomal de BCG, y observaron que era capaz de inducir hipersensibilidad retardada (cuadro 1), de donde se puede deducir la posibilidad de que dicho compuesto sea capaz de proteger a

los animales contra una infección virulenta de *Mycobacterium*. Por otro lado observaron que el RNA ribosomal no era capaz de inducir hipersensibilidad en animales de laboratorio (cuadro 2) lo que sugiere que la capacidad inmunógena de los ribosomas está localizada en la fracción proteica.

Cuando los cobayos son sensibilizados con proteína ribosomal la respuesta cutánea es mayor si se usa para la prueba el

Cuadro 2 Reacción cutánea de cobayos sensibilizados con BCG a proteína-ribosomal, RNA-ribosomal y PPD

Dosis µg	Materia ribosomal		
	Proteína	RNA	PPD
0.25	121	0	36
0.50	156	0	81
1.00	196	2	144
5.00	225	4	210
10.00	342	4	No determinada

Lecturas de 24 hr., medidas en mm.²

Promedio de 8 animales.

Fuente: Ortiz-Ortiz, L.

Cuadro 3 Reacción cutánea a proteína ribosomal de BCG y PPD en cobayos sensibilizados con 450 µg de proteína ribosomal

Dosis µg	Proteína ribosomal	PPD
0.25	25	9
0.50	64	16
1.00	121	49
5.00	196	121

La magnitud de la respuesta está dada en mm.²; la lectura fue hecha a las 24 horas. Promedio de 5 animales.

Fuente: Ortiz-Ortiz, L.

antígeno homólogo que el PPD (cuadro 3).

Smith y Bigley⁴ comunicaron que la fracción RNA-proteína protege a los ratones contra una infección de *S. typhimurium* y todavía Houcheuns y Wright aislaron una glicoproteína o un mucopolisacárido de elevado peso molecular y supusieron que ese era el antígeno protector.

Cuadro 4 Inmunogenicidad de ribosomas obtenidos de *Yersinia pestis* y *Salmonella typhimurium*

Dosis*	Ratones inmunizados con ribosomas (No. de muertes/total)	
	<i>Yersinia pestis</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
200	40/40	0/40
100	39/40	0/40
50	40/40	0/40
25	40/40	6/40

* Expresada en µg, peso húmedo, de ribosomas. Dosis de reto: 10 LD₅₀ (*Y. pestis*, kim-10). 100 LD₅₀ (*S. typhimurium*, SR-11). En los animales no inmunizados el número total de muertes fue: *Y. pestis* 40/40; *S. typhimurium* 38/40.

En un análisis de posibilidades encontramos que parece haber pocas dudas de que el material ribosomal induce protec-

ción y en muchos casos de manera tan eficiente como lo hace la bacteria completa.

Johnson³ demuestra que el material ribosomal y las proteínas ribosomales (cuadros 4 y 5), son capaces de inmunizar ratones contra *S. typhimurium*, pero no contra *Yersinia pestis* debido a que la acción de este último microorganismo se ejerce a través de una toxina.

Molinari y Larralde¹⁴ demuestran que el material ribosomal protege a ratones contra grandes dosis virulentas de *S. typhimurium* (cuadro 6).

Molinari y Cabrera,¹⁵ comunicaron que una preparación ribosomal de *Salmonella typhi* 2, es capaz de proteger a ratones contra dosis virulentas de *S. typhi* y que el grado de inmunidad inducido, con esta preparación fue significativamente mayor que el inducido con la vacuna tifoídica de referencia (de los Institutos Nacionales de Salud, S.S.A.). La fracción ribosomal está compuesta aproximadamente de 58 por ciento de RNA y 42 por ciento de proteínas; es de suponerse entonces que en alguna de estas fracciones, o en

Cuadro 5 Inmunogenicidad de proteínas ribosomales de *Yersinia pestis* y *Salmonella typhimurium*

Dosis µg	Ratones inmunizados con proteínas ribosomales (No. de muertes/total)	
	<i>Yersinia pestis</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
200	39/40	0/40
100	40/40	0/40
50	38/40	1/40
25	40/40	14/40

No. de animales muertos en controles no inmunizados: 40/40. Dosis de reto: 10 LD₅₀ (*Y. pestis*) y 100 LD₅₀ (*S. typhimurium*).

Cuadro 6 Inmunogenicidad de la fracción ribosomal aislada de *S. typhimurium*

Dosis μ g	Ratones inmunizados con la fracción ribosomal (No. de muertes/total)
100	16/17
10	14/16
1	9/12
0.1	2/17

En los controles no inmunizados el número de animales muertos fue de 16/16.
Desafío: *S. typhimurium* 100 LD₅₀.
Tiempo: 30 días después de la vacunación.

las dos, esté localizada la capacidad inmunogénica.

Es importante señalar que la proteína ribosomal purificada es capaz de inducir hipersensibilidad de tipo retardado en cobayos,¹² como puede ser demostrado en pruebas cutáneas con la misma proteína ribosomal o con PPD, siendo la respuesta cutánea a la proteína ribosomal incluso más intensa que cuando se usa PPD. El RNA, por otro lado, no despierta la respuesta hipersensible.¹² Resulta, entonces, de gran interés hacer un estudio comparativo entre la capacidad protectora de la proteína con respecto a los ribosomas.

Inmunidad cruzada inducida por fracciones ribosomales

Thompson y Snyder,⁵ usando la fracción ribosomal obtenida de una mutante de *Diplococcus pneumoniae* tipo 3, inducen protección contra este organismo y protección cruzada contra los serotipos virulentos 1, 2 y 7; y Molinari y Galván¹⁶ encuentran que la fracción ribosomal obtenida de *E. coli* 005 protege a ra-

tones desafiados con serotipos O₁₁₁, O₁₂₇, O₂₆ y hasta con *Shigella flexneri*, es decir demuestran la existencia de inmunidad cruzada inducida por fracciones ribosomales obtenidas de un serotipo de *E. coli*.

REFERENCIAS

1. Youmans, A. S. y Youmans, G. P.: *Immunogenic activity of a ribosomal fraction obtained from Mycobacterium tuberculosis*. J. Bacteriol. 89:1291, 1965.
2. Jensen, R.; Gregory, B.; Naylor, J. y Actor, R.: *Isolation of protective somatic antigen from Vibrio cholerae (Ogawa) ribosomal preparations*. Infect. Immunity. 6:156, 1972.
3. Johnson, W.: *Ribosomal fractions isolated from Salmonella typhimurium and Yersinia pestis*. Infect. Immunity. 5:947, 1972.
4. Smith, R. A. y Bigley, N. J.: *Ribonucleic acid-protein fractions of virulent Salmonella typhimurium as protective immunogens*. Infect. Immunity. 6:377, 1972.
5. Thompson, H. C. W. y Snyder, I. S.: *Protection against pneumococcal infections by a ribosomal preparation*. Infect. Immunity. 3:16, 1971.
6. Venneman, M.: *Purification of immunogenically active ribonucleic acid preparations of Salmonella typhimurium: molecular sieve and anion-exchange chromatography*. Infect. Immunity. 5:269, 1972.
7. Venneman, M. R. y Bigley, N. J.: *Isolation and partial characterization of an immunogenic moiety obtained from Salmonella typhimurium*. J. Bacteriol. 100:140, 1969.
8. Venneman, M. R.; Bigley, N. J. y Berry, L. J.: *Immunogenicity of ribonucleic acid preparations obtained from Salmonella typhimurium*. Infect. Immunity. 1:574, 1970.
9. Winston, S. H. y Berry, L. J.: *Antibacterial immunity induced by ribosomal vaccines*. J. Reticuloendothel. Soc. 8:13, 1970.
10. Winston, S. H. y Berry, L. J.: *Immunity induced by ribosomal extracts from Staphylococcus aureus*. J. Reticuloendothel. Soc. 8:66, 1970.
11. Youmans, A. S. y Youmans, G. P.: *Factors affecting immunogenic activity of mycobacterial ribosomal and ribonucleic acid preparations*. J. Bacteriol. 99:42, 1969.
12. Ortiz-Ortiz, L.; Solarolo, E. B. y Bojalil, L. F.: *Delayed hypersensitivity to ribosomal protein from BCG*. J. Immunol. 107:1022, 1971.
13. Molinari, J. L. y Larralde, C.: *Acquired immunity to murine typhoid induced in mice with fractions of Salmonella typhimurium*. Rev. Lat. Am. Microbiol. 16:189, 1974.

14. Molinari, J. L. y Cabrera, R.: *Inmunidad inducida con una preparación ribosomal obtenida de Salmonella typhi T y 2*. Rev. Lat. Am. Microbiol. 16:199, 1974.
15. Molinari, J. L. y Galván, D.: *Cross immunity induced by ribosomal fraction obtained from Escherichia coli 055 B5*. Rev. Inv. Salud Pública. 34:183, 1974.

IV NUEVAS VACUNAS DE ORGANISMOS ENTERICOS

JORGE OLARTE *

El empleo de vacunas en la prevención de las infecciones por bacterias enteropatógenas se inició desde fines del siglo pasado. En 1884 se realizaron los primeros intentos de inmunización contra el cólera y en 1897 se introdujo la vacuna contra la fiebre tifoidea.

El problema es bien complejo debido a la diversidad de agentes que intervienen en la etiología de estos padecimientos así como a la riqueza antigénica y la multiplicidad de serotipos que constituyen los distintos grupos de gérmenes intestinales.

Una primera etapa, que concluyó hace unos dos decenios, comprende un sinnúmero de estudios llevados a cabo con distintos tipos de vacunas, inclusive el uso de fagos como agentes profilácticos, de los cuales sólo sobrevive la vacuna contra la fiebre tifoidea. Aun ésta, que ha sido mejorada en sus dos formas actuales, la inactivada con acetona y la inactivada por el calor y fenolada, presenta limitaciones bien conocidas, como son su valor protector relativo, la necesidad de su aplicación en dosis múltiples y las reacciones indeseables que origina.

* Académico numerario. Hospital Infantil de México.

En la siguiente etapa se han abierto nuevos caminos gracias al esclarecimiento de los principales mecanismos de patogenicidad a través de los cuales actúan las bacterias enteropatógenas, a los avances logrados en la genética bacteriana y al mejor conocimiento de la estructura y composición de la célula misma. Igualmente se tiene una visión más clara, aunque todavía confusa e incompleta, de los fenómenos inmunológicos que ocurren en estas infecciones, en particular a nivel de la mucosa intestinal.

Tres modelos experimentales han sido útiles en la búsqueda de nuevas vacunas: el cólera, la shigelosis y la salmonelosis.

Cólera

El descubrimiento de la enterotoxina del cólera y su modo de acción, junto con su aislamiento y purificación, han conducido al establecimiento de modelos que permiten medir la actividad de la toxina y su neutralización en porciones ligadas del intestino delgado y en la piel del conejo, en el ratón y el conejo recién nacido e *in vitro*, en cultivo de células adrenales.

Es así como se ha podido obtener un toxoide con alto valor protector en ani-

males de laboratorio. Sin embargo, al probarlo en el hombre los resultados no han sido tan halagadores como se esperaba, quizá porque el toxoide no es todavía suficientemente potente, o bien porque en la resistencia contra esta enfermedad intervienen otros factores tan importantes como el propio sistema toxina-antitoxina; uno de ellos es la colonización del intestino delgado por el vibrión, que constituye una etapa indispensable previa a la elaboración de la toxina. Con miras a impedir dicha colonización se estudian diversas vacunas orales, tanto vivas como muertas, que despierten inmunidad local capaz de bloquear la multiplicación del vibrión en el intestino.

Los resultados experimentales obtenidos con algunas de ellas son prometedores, aunque hasta el momento ninguna ha tenido éxito en el hombre. Desde luego, tampoco se ha logrado este efecto con las vacunas parenterales.

Shigelosis

El segundo modelo experimental se basa en la capacidad que poseen las shigelas y ciertas cepas de *Escherichia coli* desprovistas de enterotoxina, de invadir el epitelio del intestino para luego multiplicarse en el interior de la mucosa y producir la enfermedad. En este estudio se utiliza la prueba de Sereny en la conjuntiva del cobayo, así como la invasión *in vitro* de las células HeLa en cultivo de tejido.

El proceso comprende dos etapas: la colonización del intestino, seguida por la penetración del germen. Las vacunas parenterales, aunque despiertan la formación de diversos tipos de anticuerpos, no son capaces de bloquear ninguna de ellas.

Sin embargo, por medio de manipulaciones genéticas ha sido posible desarrollar cepas de shigela de virulencia atenuada con las cuales se consigue este objetivo. Formal y col., utilizando el cruzamiento de *Shigella flexneri* 2a y *Escherichia coli* K-12 han obtenido diversos híbridos que conservan la propiedad de multiplicarse en el intestino, en mayor o menor proporción, y provoca una invasión limitada de la mucosa cuando se administran por vía bucal. Algunas de estas vacunas despiertan en el hombre un grado de inmunidad contra la shigelosis semejante al que se observa en la enfermedad natural.

Resultados similares han sido obtenidos en estudios de campo realizados en Yugoslavia y Centroamérica con la vacuna viva de Mel, consistente en una cepa de shigela estreptomycin-dependiente. No obstante, todas estas vacunas han exhibido en la práctica serios inconvenientes que impiden su generalización, como es la especificidad estrictamente del tipo de la resistencia que confieren, en un padecimiento en el que intervienen muy diferentes serotipos; la corta duración de la inmunidad, generalmente entre seis meses y un año; la necesidad de la administración previa de sustancias que neutralicen la acidez estomacal o el uso de cápsulas con capa entérica; la aplicación indispensable de dosis múltiples o muy elevadas. Además, algunas de estas mutantes han revertido a la forma virulenta *in vitro* y en experimentos de vacunación en el hombre.

Salmonelosis

Se ha utilizado ampliamente como modelo experimental la infección por *Salmo-*

nella *typhimurium* y *Salmonella enteritidis* producida en la rata y el ratón, animales naturalmente susceptibles a estos gérmenes; el modelo tiene particular valor cuando se usa la vía bucal para la inoculación. También se emplean el ratón y la rata en estudio con *Salmonella typhi*, pero sienten estos animales resistentes a la infección, es necesario recurrir a una serie de artificios que se alejan de la historia natural de la enfermedad, por lo que, en realidad, en este caso se mide toxicidad y no verdadera virulencia.

Se dispone de una serie de cepas atenuadas de salmonela que poseen distintas características genéticas, como son las mutantes químico-deficientes, mutantes sensibles a la temperatura, mutantes en fase rugosa, mutantes con antígeno somático disminuido, híbridos *Salmonella-Escherichia coli* y, desde luego, cepas estreptomocina-dependientes.

Algunas de estas vacunas, preparadas con *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, han dado excelentes resultados en los modelos experimentales, lo que ha estimulado el uso de técnicas similares empleando *S. typhi* con miras a su aplicación en el hombre. Varias cepas se han revelado prometedoras, como la estreptomocina-dependiente estudiada en voluntarios humanos por DuPont y colaboradores. No obstante, ninguna de las vacunas vivas de *S. typhi* ha sido todavía suficientemente probada en humanos.

Vale la pena mencionar una nueva mutante de *S. typhi* capaz de utilizar la galactosa exógena, obtenida por Germanier y Fürer, denominada Ty 21a; en experimentos en el ratón y en voluntarios a los que se ha administrado el germen vivo por vía bucal, se ha observado un alto

grado de protección. Esta vacuna se encuentra en investigación.

Se han estudiado también en el hombre diversas vacunas administradas por vía bucal muertas de *S. typhi*, con resultados pobres o por lo menos contradictorios. Investigaciones realizadas en voluntarios en Maryland y en la India indican cierta protección. De este grupo de vacunas la más prometedora parece ser una preparada en Alemania del Este, que ha dado buenos resultados en experimentos de campo realizados en Chile, en los que se ha administrado a dosis elevadas, sin que se tenga información detallada al respecto.

Billaudelle y colaboradores han obtenido diversas fracciones de *S. typhi* por medio de técnicas más o menos sofisticadas con las cuales, aparentemente, se logra provocar, en animales de laboratorio, la formación de diversos tipos de anticuerpos a títulos elevados, incluyendo anti-Vi y anticuerpos bactericidas, así como protección en pruebas preliminares de patogenicidad en humanos y animales de laboratorio.

En México, Molinari y col. han demostrado que los ribosomas extraídos de *S. typhi* son capaces de proteger al ratón contra la inoculación intraperitoneal con el germen homólogo.

Nuevo enfoque

Recientemente se ha encontrado que estructuras del tipo de los *pili* o *fimbria* presentes en la superficie de algunas de las bacterias enteropatógenas representan un verdadero factor de virulencia, responsable de la adherencia del germen al epitelio y de la colonización subsecuente

del intestino. Una de estas estructuras es el antígeno K-88, encontrado en cepas toxigénicas de *Escherichia coli*, que atacan a los cerdos, terneros y borregos; cuando las bacterias pierden este antígeno dejan de ser patógenas, aunque continúan sintetizando la toxina. Los esposos Evans y col. han descubierto un factor de este tipo en una cepa de *Escherichia coli* toxigénica, identificada como H-10407, patógena para el hombre; si el germen pierde el factor, también pierde la capacidad de colonizar el intestino. Estudiando en el microscopio electrónico es semejante a los *pili*, y es capaz de inducir la formación de anticuerpos que protegen al conejo recién nacido contra la infección experimental. El antígeno muestra cierto parentesco inmunológico con otros colis patógenos para el hombre, pero no con el antígeno K-88.

Estos hallazgos ofrecen nuevas perspectivas a la vez que utilizan un camino más racional, como es el de poder llevar a cabo y bloquear específicamente uno de los mecanismos fundamentales de virulencia.

Otro aspecto extraordinariamente atractivo de este enfoque consiste en el hecho de que la síntesis de estos antígenos está determinada por material genético, al igual que la enterotoxina de *Escherichia coli*, lo que permite obtener fácilmente mutantes que posean uno u otro factores

(colonización o toxina), así como su transferencia a otras especies bacterianas.

Conclusión

A pesar de todos los esfuerzos orientados al desarrollo de vacunas de la naturaleza más diversa y de que experimentalmente se tienen excelentes resultados con muchas de ellas, en la práctica no contamos con ninguna que sea plenamente satisfactoria. Los estudios de campo debidamente controlados realizados con las vacunas clásicas de la fiebre tifoidea y del cólera, llevan a la conclusión de que la protección que son capaces de conferir deja mucho que desear y es inferior a los efectos favorables que se obtienen por medio de la elevación, aun moderada, del nivel sanitario y socioeconómico de las comunidades. Desde luego, esto no quiere decir que estas vacunas no deban usarse cuando las condiciones sanitarias sean críticas o suficientemente precarias. De todos modos, y no obstante el progreso que se observa en la mayoría de los países, pasarán generaciones antes de que se logre el control de las infecciones intestinales que azotan vastas regiones del planeta, por lo que se considera de suma importancia continuar en la búsqueda de agentes inmunizantes efectivos y de fácil aplicación que permitan la vacunación generalizada.

V ESTADO ACTUAL DE LA VACUNACION CON BCG

JORGE FERNÁNDEZ DE CASTRO P.*

A lo largo de los últimos 20 años la vacunación con BCG ha recibido una notoria expansión mundial, calculándose que no menos de 1 000 millones de individuos, particularmente menores de edad, han sido objeto de esta medida profiláctica. Simultáneamente se han prologado los estudios dedicados a evaluar su eficacia protectora, sus riesgos, sus propiedades biológicas, los mecanismos de la respuesta inmune que despierta en el organismo inoculado, las condiciones idóneas para la conservación de la cepa y la preparación de la vacuna, así como muchos otros datos de interés para el médico, el inmunólogo, el microbiólogo y el epidemiólogo, siendo abrumadoras las experiencias favorables para su uso en la prevención de la tuberculosis, con la condición de que se cumplan una serie de requisitos como calidad del producto, técnica correcta en su aplicación, indicación epidemiológica de su aplicabilidad en un área geográfica determinada y otros.

Las expectativas de Calmette y Guerin se apoyaban en los formidables trabajos experimentales que surgieron a partir de la famosa experiencia pasteriana de Pouilly-le-Fort y de un siglo de éxitos con la vacuna de Jenner. Estaba demostrado empírica y experimentalmente que agentes microbianos vivos, inactivados o atenuados eran capaces de inducir protección en el individuo inoculado. Hoy día conocemos en un nivel fisiológico, bioquímico

y molecular muchos de los fenómenos implicados en la resistencia.

Sabemos que en el encuentro del organismo con el bacilo tuberculoso el primer elemento que entra en acción es el polimorfonuclear; en esta confrontación surge una situación paradójica: la célula puede ingerir el organismo, pero no degradar los lípidos capsulares, por lo que el microorganismo invasor es transportado a tejidos profundos con los elementos nutritivos necesarios para su vida y protegido de los efectos extracelulares del anticuerpo; sin embargo, el polimorfonuclear, por su corta vida, provee un periodo limitado de parasitismo intracelular. La siguiente respuesta celular, más importante es la fagocitosis por los macrófagos, en los cuales el organismo sobrevive por un periodo aún mayor de tiempo. Adicionalmente tras la ingestión, hay una estimulación simultánea de eventos inmunológicos mediados por células (hipersensibilidad retardada), con la elaboración de productos como el factor inhibidor de macrófagos (MIF) y agentes quimiotácticos, que posteriormente reforzarán la actividad de los macrófagos. Si los microorganismos permanecen viables la respuesta ulterior del huésped se manifiesta a través de la formación del granuloma, que sirve para localizar el área infectada. Existe evidencia experimental de que la terminación del parasitismo celular que se produce en las primeras etapas de la invasión del organismo por *Mycobacterium tuberculosis*,

* Director del Instituto Nacional de Higiene.

va seguida de un aumento de la eficiencia de los macrófagos produciéndose un tipo de células mucho más activas, los macrófagos activados que, bajo el control de moléculas efectoras liberadas de linfocitos sensibilizados, poseen una gran capacidad para destruir los microorganismos específicamente involucrados y otros antígenos relacionados y no relacionados. De esta manera una segunda invasión será localizada mucho más rápidamente, reduciéndose las probabilidades de que la infección se disemine como consecuencia de un quebrantamiento en las defensas del organismo.¹

Sigue siendo punto de controversia el de si la alergia tuberculínica es o no benéfica en el curso de la enfermedad; en cambio existe mucho mayor acuerdo en considerar:

1) Que, aunque a menudo asociados, alergia e inmunidad en la tuberculosis son ciertamente no sinónimas.

2) Que el estado de alerta celular producido por el BCG y por algunas otras micobacterias, como el bacilo del ratón campestre o algunas de las atípicas, es altamente favorable para el organismo cuando es invadido subsecuentemente por *Mycobacterium tuberculosis*, eliminándose mucho más fácilmente el agente invasor merced a la proliferación de líneas de linfocitos específicamente reactivos y la captación también específica de los antígenos bacilares por la superficie del linfocito, que provoca, como ya se dijo, liberación de factores activadores de los macrófagos con aumento del contenido lisosomal y de la actividad fagocítica.

De esta manera se postula actualmente sobre bases científicas y experimentales que la inoculación del BCG sustituye la

primoinfección tuberculosa natural por la de un germen atenuado que, sin los riesgos de aquélla, otorga a la persona vacunada una resistencia específica que la protege en grado variable contra la enfermedad.

Sin embargo, el respaldo más sólido a esta práctica no proviene del laboratorio ni de las especulaciones teóricas, sino de los estudios de campo controlados, que es como debe probarse la eficacia de cualquier producto biológico.

No deja de resultar paradójico que productos de eficacia protectora tan incontrovertible (como por ejemplo el toxoide diftérico) nunca hayan sido sometidos a ensayos epidemiológicos rigurosos; y que el BCG, que sí tiene este requisito, continúe siendo objeto de argumentación.

Ciertamente existían hacia 1950 pruebas de campo de resultados variables, y es por eso que el Consejo de Investigaciones Médicas de la Gran Bretaña se decidió a emprender un ensayo que llenase las condiciones más rigurosas, que puede ser tomado como modelo. Veamos:

a) La elección de la población por vacunarse fue muy estricta: se escogieron exclusivamente individuos verdaderamente tuberculino-negativos, es decir aquéllos que no eran capaces de responder ni a 100 unidades de PPD.

b) El antígeno usado para la cutirreacción fue controlado en su potencia de manera rigurosa.

c) Se empleó BCG de alta calidad.

d) La metodología estadística fue impecable. Se trató verdaderamente de un estudio doble ciego.

e) No se escatimaron recursos para el seguimiento estrecho de los grupos en observación. El estudio lleva ya 25 años

y es admirable constatar cómo dicho seguimiento continúa con idéntico celo que en el primer año.

Los resultados de esta prueba fueron muy favorables al BCG y pudo demostrarse una protección de 80 por ciento hasta los 10 años después de la vacunación, y de 78 por ciento hasta los 15. En número absolutos: 250 casos en el grupo no vacunado y sólo 56 en el vacunado, habiendo sido ambos grupos sensiblemente iguales con respecto al número de personas de 12 500.²

En pocos aspectos ha sido tan argumentado el BCG como en el que concierne a sus reacciones adversas. Estas varían en calidad, cantidad y severidad según una serie de factores, siendo los más importantes: dosis, edad de la persona vacunada, vía de administración, cepa vacunal empleada, técnica individual de la inoculación intradérmica, y diferencias genéticas de la población. Frecuentemente se mencionan en México, como objeciones serias a la vacuna, las reacciones observadas cuando se usa vía oral, olvidándose de que ésta fue abandonada desde 1970 de acuerdo con las recomendaciones de la OMS y dado que demandaba una gran habilidad del personal puesto que existe el riesgo de que el niño, todavía con pobre reflejo de deglución aspire el producto produciéndole primoinfecciones neumónicas que pueden tener un curso grave, amén de que no es posible observar el prendimiento y que, por baja que sea la tasa de complicaciones adeníticas supuradas, ellas se producen en sitios inaccesibles a la exploración.

Lo que se demanda del personal que aplica el BCG por vía intradérmica es precisamente que ésta sea intradérmica y

no subcutánea. En nuestra experiencia de campo hemos constatado cómo, cuando existe una alta tasa de abscesos reportada en una jurisdicción sanitaria cualquiera, es posible a través de los casos seguir la ruta de una sola auxiliar de enfermería mal adiestrada que realiza la inoculación con una técnica defectuosa; y recientemente se ha tenido noticia de personal médico que, por información incorrecta, ha provocado complicaciones serias al administrar toda una ampollita de 50 dosis por vía intramuscular.

En razas asiáticas se reporta una tasa desusadamente alta de cicatrices que-
loides.³

En México, con la vacuna nacional —cepa danesa— las tasas de complicaciones no graves encontradas son como sigue: úlceras, 5 por ciento; absceso local, 2 por ciento, y adenitis regional de más de 3 mm., 3 por ciento, según el doctor Gonzalo Cano Pérez del Departamento de Medicina Preventiva del IMSS. Para el doctor Sosa Martínez la incidencia es aún menor: 3 por ciento de adenitis no supuradas y menos del 1.5 por ciento de estas mismas lesiones supuradas.

No hemos encontrado reportes de casos autóctonos de complicaciones graves, es decir de becegeciosis generalizada, de lupus y de osteomielitis, por lo que se recomienda revisar las estadísticas más acuciosas recopiladas por la doctora A. Lotté del Servicio de Tuberculosis del I.N.S.E.R.M. de París, Francia, y presentadas en la reunión de 1974 del Comité de Profilaxis de la Unión Internacional contra la Tuberculosis celebrado el año pasado en Lagos, Nigeria (cuadro 1). De acuerdo con estos datos, en Europa se presentan un caso de lupus y otro de

Cuadro 1 Complicaciones graves de la vacunación con BCG, en Europa (1948-1974)

Tipo de complicación	Tasa por 100 000 habitantes
Lupus	0.038
Osteítis y lesiones sinoviales	0.040
Generalizaciones mortales	0.008
Generalizaciones no mortales	0.001
Total de complicaciones	0.087

Recopilación de la doctora Alice Lotté, París, Francia.

osteomielitis o lesiones sinoviales por cada 2 millones y medio de vacunados, con una tasa de complicaciones mortales de la vacunación, de 1 por cada 12 y medio millones de personas inmunizadas. Asumiendo que estos son los riesgos de la vacunación en México, compárese los con los de enfermedad y morir por tuberculosis, y que se calculan como sigue: de enfermar $1 \times 1\,000$ anualmente, y de morir $1 \times 6\,000$ por año que, multiplicados por el promedio de longevidad de la población, dan 6×100 y 1×100 respectivamente y representan el riesgo

de un habitante de nuestra República de enfermar y morir por tuberculosis a lo largo de su vida, de acuerdo con las estadísticas actuales.

Es interesante comparar las tasas de complicaciones que se observan en la vacunación BCG, con las de otras vacunas. Si bien existe una gran carencia de datos fidedignos con respecto a la incidencia de reacciones adversas o bien se encuentran coeficientes que varían en rangos amplísimos, vale la pena constatar que dicha comparación es muy favorable al BCG, que resulta de ser una de las vacunas más seguras (cuadro 2). Es oportuno aquí recordar que el BCG en dosis verdaderamente masivas se usa en enfermos de cáncer que a la luz de los conocimientos actuales sabemos que son individuos inmunodeficientes, y es por lo regular bien tolerado. En la casuística del doctor Arturo Beltrán, jefe de cirugía del Instituto Nacional de Cancerología, quien ha empleado el BCG en caso de neoplasias malignas, encontramos que se ha inoculado a 150 personas en tales condiciones sin

Cuadro 2 Cuadro comparativo de complicaciones graves a diversas vacunas

Vacuna	Tipo de aplicación	Tasa por 100 000	Autor
BCG	Lupus, osteomielitis, simovitis, generalización	0.004 (a)–0.134 (b)	Lotté
Antivariola	Encefalitis Generalización	0.7 (c)–1.44 (d)	Wilson Wilson
Pertussis	Lesiones neurológicas graves, incluyendo encefalitis mortal	2	Wilson
Fiebre amarilla	Encefalitis	0.015 (e)–198 (f)	Saézn.
Sarampión	Lesiones neurológicas graves	3 (g)	OMS

a) Japón, 1948-1970.

b) Francia, 1948-1970.

c) República Federal Alemana, 1926-1936.

d) Bélgica, 1948.

e) Cepa 17-D.

f) Cepa Dakkar.

g) Serie informes técnicos, No. 263.

que haya tenido una sola complicación severa ¡y hay pacientes que han recibido el equivalente de 1 000 dosis, en sesiones diferentes, pero siempre en cantidades mucho mayores a las usadas en la inmunización contra la TB!

Uno de los argumentos más frecuentemente esgrimidos en contra de la vacunación con BCG es el de que este agente, aplicado indiscriminadamente, podría activar focos tuberculosos ya existentes en el individuo vacunado, y es oportuno señalar que esta acción no ha sido atribuida únicamente al BCG sino a muchas otras vacunas, mencionándose en la literatura mundial casos de tuberculosis meníngea y de otras localizaciones aparentemente desencadenadas por la vacuna antitifoídica o la antisarampionosa. Curiosamente quienes impugnan el BCG por esta razón aducen al mismo tiempo que la vacuna invalida la prueba tuberculínica que es "el procedimiento clínico más sencillo y seguro" para el descubrimiento de individuos infectados: esta posición es contradictoria pues si el BCG despertara lesiones dormidas, otro tanto podría atribuirse a los derivados tuberculínicos.

Volvamos a los estudios controlados: ni el PPD ni el BCG en la dosis y con la técnica recomendados por la OMS producen tales efectos. Ensayos bien conducidos bajo el patrocinio de la propia organización internacional, en Burundi, Dahomey, Mauritania, Kenya, Nigeria, Indonesia, Lesotho, India, Filipinas y otros países^{4, 5, 6, 7} demostraron que ninguna de las personas que presentaban sombras pulmonares y fueron vacunadas, mostraron signos de reactivación en radiografías subsecuentes, repetidas a diversos intervalos después de la vacunación, y es-

tos estudios se encuentran profusamente difundidos y al alcance de quien desee seriamente dilucidar sus dudas. Ciertamente algunos países, muy pocos por cierto, no vacunan con BCG, pero no es por objeciones con respecto a la eficacia o seguridad de la vacuna, sino a otro concepto, el de la APLICABILIDAD,² que se compone de tres factores: el de elegibilidad de la población por vacunarse: se trata de inocular el BCG a grupos en los que una gran proporción de personas sea Mantoux-negativa, ya que el BCG sólo va a beneficiar con seguridad a los no infectados previamente; el que se refiere a la eficacia protectora de la vacuna y que en condiciones normales se puede estimar en 80 por ciento que fue la tasa de reducción observada en la investigación del Consejo Británico. Refiriéndose a estos dos factores, cabe especular, como ilustración teórica que si toda la población fuese elegible, y la vacuna confiriese un 100 por ciento de protección, la proporción en que se reduciría el tercero de los factores de la fórmula es decir, la tasa de incidencia de tuberculosis, sería también del 100 por ciento, es decir, los casos se abatirían a cero. Ahora bien, la elegibilidad siempre estará en razón, por una parte, de la situación epidemiológica y, por otra, del grupo de edad que se escoja para ser vacunado, ya que la tasa de reactivadores aumenta con la edad. De esta manera, el factor de mayor variación es el tercero, es decir, la tasa de incidencia: mientras más alta, mayores beneficios cabe esperar del BCG.

Combinando los tres elementos de la fórmula, expuestos anteriormente y aplicándolos a dos situaciones epidemiológicas tenemos que:

En Inglaterra el esquema rutinario nacional indica una sola inoculación de BCG en el grupo de edad de 12 a 14 años, con el propósito de cubrir el periodo de la adolescencia y juventud temprana. Tomando los tres factores de la fórmula, el porcentaje elegible es de aproximadamente 90 por ciento, y la eficacia protectora de la vacuna, de 80 por ciento. El factor U se estima en un $0.1 \times 1\,000 \times \text{año}$ para ese particular periodo etario, de aquí que

$$\frac{L \times E \times U}{100} = \frac{90 \times 80 \times 0.1}{100} = 7.2$$

es decir, que el número de casos anuales que se ahorrarían por medio de este programa de vacunación sería del orden de 7.2 por cada 100 000 habitantes. Si actualmente Inglaterra cuenta con 2.5 millones de adolescentes en este grupo de edad, la vacunación de los tuberculino-negativos ahorraría teóricamente 180 casos cada año. Pero claro que la cifra sería acumulativa puesto que el efecto protector dará al menos 15 años según hemos visto.

En México, el BCG se aplica a los menores de 15 años, grupo en el que se registra una proporción de aproximadamente 90 por ciento de "no reactores", es decir con respuesta tuberculínica menor de 10 mm. Aceptando que nuestra vacuna (cepa danesa como en el estudio del M.R.C.) alcance una eficacia protectora del 80 por ciento, y que la tasa de incidencia de tuberculosis sea del orden de $0.7 \times 1\,000$ cuando menos, los resultados serían como sigue:

$$\frac{90 \times 80 \times 0.7}{100} = 50.4$$

lo que significa que nuestro programa de vacunación sería alrededor de 7 veces más aplicable que el de Inglaterra, ya que asimismo la tasa de casos evitados se multiplica por el mismo factor. Y si trasladamos esta tasa a números absolutos tendríamos que, para un programa que cubriera a toda la población menor de 15 años, la suma anual de casos ahorrados sería de 13 000.

Sobre la base de estos cálculos se puede comprender fácilmente que mientras las autoridades de salud pública en Inglaterra se encuentran ante la duda de si continúan o no con su programa de vacunación en escala nacional, las nuestras por el contrario, están empeñadas en proteger a la mayor proporción posible de menores de 15 años.

En los Estados Unidos de América donde el enorme porcentaje de la población elegible es contrarrestado por una bajísima incidencia anual de nuevos casos, la aplicabilidad de la vacuna resulta alta sólo para algunas áreas limitadas donde la morbilidad es asimismo elevada. Por otra parte, en algunos de sus estudios la vacuna mostró pobre eficacia protectora atribuible a varias causas, pero también a la mala calidad del biólogo empleado, por lo que la fórmula arroja cifras aún menores para este país que las que se calcularon antes para Inglaterra; se justifica, por lo tanto, que el Servicio de Salud Pública norteamericano no haya adoptado la vacunación con BCG como programa nacional, considerando que acarrearía pobres beneficios y la desventaja de perder la prueba tuberculínica, aquí sí, como elemento en la búsqueda de casos.

Es común que se compare el BCG como medida de control de la tuberculosis, con

la de localización y tratamiento de casos, dándose ventajas a esta última sin tomar en cuenta la factibilidad de ambos procedimientos y su costo. Aunque en estos momentos dispusiéramos de la infraestructura sanitaria capaz de realizar las labores de detección y control médico de los casos abiertos en la comunidad nacional (y que este procedimiento no presentara el tremendo inconveniente de la elevada deserción de los pacientes antes de completar el periodo adecuado de tratamiento), la comparación de la inversión que debe realizarse para uno y otro capítulos de la lucha antituberculosa arroja una clara ventaja, en términos de costo-beneficio para el BCG, resultando, según cálculos del doctor Donato G. Alarcón que por cada peso invertido, el BCG logra 4 veces el impacto epidemiológico que la búsqueda y tratamiento de casos. Sería pues irresponsable abandonar esta formidable arma en un país de tan escasos recursos como es el nuestro.

En México se ha venido vacunando a los menores de 15 años desde 1961; sin embargo, sólo recientemente pudo disponerse de un BCG de calidad comparable al empleado en el estudio de la Gran Bretaña, y además liofilizado; por otra parte no fue sino hasta 1969 que se adoptó el método de vacunación directa, es decir, sin previa prueba tuberculínica, posibilitando el logro de altas coberturas. Entre 1973 y 1974 se aplicaron alrededor de 17 millones de dosis, según informes de la CNCT para un índice de protección del 70 por ciento para el grupo menor de 15 años, por lo que el impacto epidemiológico de esta medida habrá de revelar los resultados en los próximos años.

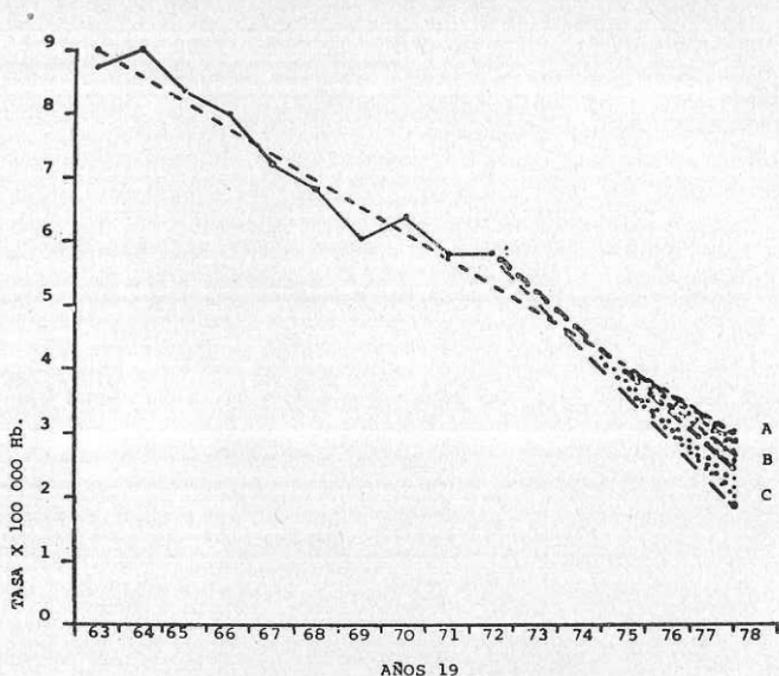
Presentamos aquí una gráfica donde, según estimaciones del autor antes mencionado, se puede apreciar la tendencia observada de la mortalidad por tuberculosis en todas sus formas a partir de 1963, y la que cabe esperar, extrapolarando dicha tendencia, hasta 1978, mostrándose, en la línea B y C respectivamente, la reducción que se puede obtener con la cobertura mencionada del 70 por ciento, y el decremento posible si la protección se eleva al 90 por ciento. Trasladando estos datos de mortalidad a número de casos a lo largo del periodo, encontraríamos que la aplicación del BCG significa un ahorro considerable de sufrimiento humano al que no tenemos por qué renunciar.

Empero, bien vale la pena hacer algunas consideraciones:

1) Con esta cobertura de 70, el por ciento de disminución es de 56; con sólo elevarla un 20 por ciento, para alcanzar el 90, potenciaríamos enormemente el impacto epidemiológico hasta duplicar el descenso de la tasa de mortalidad.

2) De no cubrirse año con año a la población de recién nacidos, el índice alcanzado se deterioraría sensiblemente de modo que, a tres años de distancia, la protección en el grupo menor de 15 años apenas sería de 35 por ciento, diluyéndose el posible efecto epidemiológico hasta niveles de escasa significación. Hagamos conciencia de que la vacunación, de no constituir un programa sostenido a lo largo de un lapso suficientemente largo, será de muy dudosa utilidad.

3) Creemos que rendirá mejores frutos la estrategia de vacunar año con año a la mayor proporción posible de recién nacidos, en vez de aguardar varios años a la acumulación de un gran número de



A.- Tasa calculada según tendencia 1963 - 1972
 B.- Tasa esperada con 70% de cobertura
 C.- Tasa esperada con 90% de cobertura

personas elegible para efectuar campañas masivas, dado que esta última política dejaría sumamente susceptible a formas postprimarias de la enfermedad.

4) En esta misma línea de pensamiento, pensamos que precisamente si la vacunación con BCG en México aún no se ha reflejado ostensiblemente, como sería de esperarse, en las tasas de meningitis tuberculosa, es porque ese 70 por ciento de cobertura de que hablábamos se alcanzó vacunando a una proporción mucho mayor del grupo escolar, menor del grupo preescolar y casi nula de menores de 1 año.

Nuestro país produce actualmente un BCG liofilizado de calidad internacional-

mente reconocida. En 1970 el laboratorio que funcionaba en forma independiente se incorporó física y administrativamente al Instituto Nacional de Higiene en cuyo predio se construyó un moderno local que fue dotado de los recursos más avanzados para la preparación de la vacuna desecada, que tiene sobre el antiguo producto líquido múltiples ventajas, como la de una mejor conservación en condiciones ambientales adversas y la de permitir todas las pruebas de control necesarias para garantizar su inocuidad, potencia y estabilidad (la vacuna líquida tenía caducidad de 3 semanas en tanto que los controles duran 12 semanas).

Se eligió la cepa danesa por ser la que tenía el requisito de un estudio controlado de eficacia, amén de presentar una tasa moderada de complicaciones locales en comparación a otras cepas. En la preparación de la vacuna se sigue rigurosamente el método de "lote semilla", preconizado por la OMS,⁸ por medio del cual el liofilizado original, procedente de Copenhague, nunca es objeto de más de 12 pases (en realidad nunca se le dan más de 8) a fin de evitar que la cepa original, tras una posible variación genética pudiera ser sustituida por otro de diferentes propiedades y conservar una calidad homogénea del producto.

La vacuna final se somete a 9 pruebas de control diferentes varias de las cuales se realizan por duplicado. Periódicamente, y por acuerdo de la OMS, se envían muestras del producto al laboratorio de referencia en Copenhague, sitio donde, por otra parte, se ha adiestrado nuestro personal técnico, y tenemos la satisfacción de contar con el certificado internacional expedido por este establecimiento, en el que consta que nuestra vacuna goza de características comparables a la de las tres o cuatro que son recomendadas por la OMS como de calidad óptima.

La Dirección General de Investigación en Salud Pública y el Instituto Nacional de Higiene realizan en la actualidad sendos programas de investigación y desarrollo a efecto de producir y probar en el campo un BCG concentrado para aplicación por multipuntura que reducirá prácticamente a cero la frecuencia de úlceras, abscesos, adenitis regionales y cicatrices queloides, con lo que de seguro aumentará la aceptación de la vacuna por parte de los médicos y el público en general y se alcanzarán las ansiadas altas coberturas en recién nacidos.

REFERENCIAS

1. Bellanti, J. A.: *Immunology*. Londres, W. B. Saunders Company, 1971.
2. D'Arcy Hart, P.: *Efficacy and applicability of mass B. C. G. vaccination in tuberculosis control*. Brit. Med. Journ. 1:586, 1967.
3. Toman, K., experto de la OMS. Comunicación personal.
4. WHO. *Investigation of the practicability of direct BCG vaccination in Dabomey*. WHO/TB/Techn. Information/33, 14 julio, 1964.
5. Sunakorn, B.: *A trial of BCG vaccination without preceding tuberculin test*. WHO/TB/Techn. Information/66, 47, 1966.
6. Geser, A.; Roy, L. A. y Blocher: *Direct BCG vaccination in Burundi, Dabomey and Mauritania*. Bull. Wld. Hlth. Org. 35:609, 1966.
7. Gothi, G. D. y Bhushan, C.: *BCG without tuberculin test*. Proceedings of the XIX Tuberculosis and Chest Diseases Workers Conference, Dehli, 1964.

VI NUEVOS AVANCES EN VACUNAS VIRALES

GEORGE HOTTLE *

Hace ya casi 200 años que se inició la vacunación contra la viruela. Aunque éste

fue el primer éxito en el uso de inmunizantes para la prevención de enfermedades en el hombre, el desarrollo de vacunas efectivas y seguras contra las en-

* De la Oficina Sanitaria Panamericana.

fermedades virales, ha sido de lenta evolución.

Este retraso se ha debido a que para el cultivo de virus se requieren medios de tejidos capaces de mantener un metabolismo activo. No fue sino hasta hace 25 años, cuando Enders y col. demostraron que los poliovirus podían crecer en cultivos de células de riñón de primates, que se abrieron las puertas a la producción de poliovirus en gran escala y al desarrollo de una vacuna efectiva.

La explotación de esta técnica ha conducido a la adaptación de otros virus a una cierta variedad de células animales y al estudio del crecimiento, mantenimiento y preservación en el laboratorio de células vivas de muchas especies. Como resultado, se han preparado vacunas virales para la inmunización contra la poliomielitis, el sarampión, la rubéola, la parotiditis, la rabia y la viruela en diversos cultivos de células animales, entre los que se cuentan riñón de mono, embrión de pato, embrión de pollo, riñón de conejo y células embrionarias humanas.

Uno de los avances recientes más importantes ha sido el uso de células diploides humanas como sustrato para el crecimiento de virus en la producción de vacunas.¹ Actualmente, se han aislado y están disponibles dos cepas de células embrionarias humanas, la W.1.38 y la M.C.R.-5. Estas células se mantienen en estado de congelación a la temperatura del nitrógeno líquido (-196°C). Permanecen viables y en estado diploide durante años a esta temperatura y se ha visto que más tarde pueden llegar a efectuarse de 50 a 60 cambios de generaciones (duplicación de la población) en cultivos, antes de sufrir senilidad. Extensos estudios

con estas cepas de células han demostrado que están libres de agentes microbianos adventicios. Su uso como sustrato para la producción de vacuna tiene un buen número de ventajas: como son de origen humano, son susceptibles a los virus que causan enfermedad en el hombre y pueden utilizarse para la preparación de diferentes vacunas virales, evitándose al mismo tiempo los problemas de adquirir tejidos animales, donadores que pueden escasear o contener agentes patógenos. Para este último caso, se necesita hacer una cuarentena e investigación extensa antes de movilizar el tejido para la preparación de sustratos de virus. Se logran superar las objeciones al uso de células diploides humanas debidas a posibles cambios genéticos o reversión a la capacidad cancerosa, por medio de la vigilancia estrecha de su cariología y su facilidad para el heterotrasplante. Se estima que la mitad de la producción mundial de vacuna de poliovirus se elabora actualmente en células diploides humanas.

Actualmente está en estudio una técnica para incrementar la producción de vacunas virales mediante el uso de un ingenioso sistema de perfusión del cultivo diseñado por George Mann.² Con este aparato, grandes áreas de células de un tejido en crecimiento pueden cultivarse a cualquier densidad deseada en un sistema cerrado bajo condiciones controladas. Este procedimiento evita la prolongada exposición del tejido a los productos de su propio metabolismo. Las células son infectadas con virus seleccionados y su progenie es recolectada sin mayor demora en un reservorio adaptado para preservar la cantidad máxima de virus. Este procedimiento dará un mayor rendimiento

to de virus reduciendo, por lo tanto, los costos de las vacunas. Los experimentos preliminares con el uso de células diploides humanas en este sistema, han exhibido resultados prometedores con buenos rendimientos de vacuna Sabin de poliovirus tipo I. Se planea extender este sistema al crecimiento de otros virus, tales como los del sarampión y la rubéola que no destruyen rápidamente las células de los tejidos. En estas condiciones las células deben continuar liberando virus durante largos periodos de tiempo, con la consecuente mejoría en el rendimiento de vacuna.

Con respecto al desarrollo de la vacuna antirrábica, hay indicios de progreso. A pesar de que esta vacuna fue usada por primera vez por Pasteur hace ya casi 100 años, sigue siendo uno de los productos biológicos más crudos que se aplican al hombre. Esto se ha debido a que el virus rábico es conocido por su efecto en el sistema nervioso central, y las vacunas fueron preparadas como suspensiones de tejido de cerebro o medula espinal infectada.

Sin embargo, en el último decenio se ha puesto en evidencia que este virus puede también desarrollarse en células humanas diploides.³ Aunque la producción no ha sido tan alta como se hubiera deseado, los procedimientos de concentración han permitido la producción de vacunas procedentes de estos cultivos con alto valor antigénico, pero se ha visto que se requieren todavía algunos avances técnicos para la obtención de alta producción viral y nulificar las pérdidas durante la concentración. Las vacunas preparadas en cultivo de células tienen la ventaja sobre las antiguas vacunas de estar libres de te-

jido nervioso y contener menos proteínas extrañas. Su uso en la vacunación pre-exposición, es especialmente recomendado en razón de los buenos niveles de anticuerpos neutralizantes que se obtienen después de la primera dosis y los altos niveles después de tres dosis con un mes de intervalo entre cada una. Cuando esté disponible esta vacuna, será la de elección en la profilaxis de la rabia, por su seguridad y potencia.

Cuando se considera el uso de la vacuna antirrábica post-exposición, la vacuna de cultivo de tejido debe ser igualmente el antígeno de elección, sin embargo, su disponibilidad dependerá del mejoramiento de los métodos de crecimiento del virus en cultivo de células. Recientes trabajos⁴ para el desarrollo de esta vacuna, han evidenciado que se obtiene una excelente respuesta inmune con cuatro inyecciones en los días 1, 3, 7 y 14 con refuerzos a los 30 y 90 días.

¿Qué avance podremos esperar en la vacuna contra la influenza? No obstante que la actual vacuna preparada en embrión de pollo es de valor, la mutación del patrón antigénico del virus de influenza en la naturaleza ha creado problemas en la preparación de vacunas efectivas para nuevas epidemias. La evidencia ha mostrado que son dos los antígenos importantes en el efecto protector de esta vacuna:⁵ la hemaglutinina o antígeno H, y la neuraminidasa o antígeno N. Cualquiera o ambos de estos antígenos pueden encontrarse cambiados en los siguientes aislamientos de virus patógenos epidémicos. La cepa más reciente ha sido definida como H₃N₂. Puesto que las nuevas cepas han aparecido anteriormente con 10-15 años de intervalo, se podría anticipar que

en la pandemia esperada para los próximos 2 ó 3 años podrían ser los nuevos virus H_4N_2 o H_3N_3 .

Se han propuesto acciones para una rápida coordinación en la manufactura de una vacuna de nuevas cepas de virus, empleando técnicas de recombinación genética para lograr nuevos antígenos en laboratorios adecuados. Esto podría ser efectuado tan pronto como un virus de nueva composición antigénica fuera detectado, con el objeto de que la producción de la vacuna del recientemente desarrollado virus sea emprendida rápidamente. De esta manera podrán evitarse grandes esfuerzos para adaptar el desarrollo del virus natural a las condiciones de laboratorio.

La necesidad de mejorar la vacuna antivariolosa es urgente en virtud de que esta enfermedad está quedando bajo control. En 1972, por primera vez en el hemisferio occidental, se dejó de reportar viruela.⁶ Con esto, las reacciones a la vacunación fueron contempladas con alarma, mientras que las presiones para detener la vacunación eran evidentes. Se han desarrollado mejores métodos de preparación de la vacuna: uno de ellos es el de sustituir el método de crecimiento del virus en la piel de bovinos, por un método que utiliza células diploides humanas o un cultivo de células renales de conejo.

La vacuna contra la fiebre amarilla, que ha sido satisfactoriamente usada en los pasados 35 años, está sujeta así mismo a estudios que tienen por objeto mejorar el sustrato para el virus. Ahora se sabe que la mayoría de los huevos de pollo que se usan para el cultivo, contienen virus de *leucosis aviar*. Cuando se disponga de huevos libres de *leucosis* y la progenie del virus de la fiebre amarilla se purifi-

que, la vacuna podrá ser preparada libre del virus aviar. En efecto, esta vacuna se ha mejorado utilizando las técnicas disponibles con la tecnología actual.

En lo que respecta a la hepatitis viral, se trabaja arduamente pero aún no se han conseguido resultados positivos. El virus de la hepatitis A (hepatitis infecciosa) que ha sido cultivado en el hígado del mono *Genus sanguinus* ha sido identificado como un enterovirus.⁷ Usando el microscopio electrónico, se han podido ver partículas virales en tejidos infectados de estos animales y se ha preparado un antígeno para ser usado en pruebas de fijación del complemento a partir de hígados de animales infectados; por medio de esta prueba, se han encontrado anticuerpos séricos en individuos infectados.

También ha habido progreso con el virus de la hepatitis "B", el virus de la hepatitis por suero homólogo. Los antígenos de este virus se denominan "antígeno Australia". Se le encuentra en la sangre de personas infectadas utilizando el microscopio electrónico y métodos inmunológicos. Como resultado de esta investigación, se han identificado cuatro subtipos del virus en diferentes personas infectadas. Hasta el momento los trabajos efectuados incluyen la recuperación del antígeno por plasmaféresis de la sangre de personas infectadas, así como estudios para conseguir, a partir del antígeno, vacuna de virus inactivados.⁸

En virtud de que ni el virus de la hepatitis "A" ni el de la "B" se ha podido desarrollar en cultivo de tejidos, la producción en gran escala de la vacuna, deberá esperar por nuevas técnicas.

Cuando se considera el posible desarrollo de vacunas virales para el futuro,

uno piensa naturalmente en el control de enfermedades respiratorias. Los investigadores de este campo han informado un número no menor de 100 distintos virus relacionados con los de la influenza, considerados como agentes etiológicos de algunas enfermedades humanas del aparato respiratorio. Incluyen virus parainfluenza, virus respiratorios sinciales, coxsackie y adenovirus que afectan niños, rinovirus que causan el resfriado común en niños y adultos. Con este número de virus, son enormes los problemas que conlleva la vacunación. Para enfrentarse a esos problemas, se ha sugerido hacer vacunas mixtas.⁹ Por lo menos se necesitarían cuatro fórmulas: una para recién nacidos; otra para niños; una para adultos y otra más para grupos semiaislados de gran densidad, como cuarteles militares, guarderías infantiles, y otros.

La posibilidad de administrar vacunas de virus vivos atenuados por vía bucal o intranasal está siendo investigada. Algunos resultados han mostrado que los anticuerpos del aparato respiratorio pueden ser inducidos con mayor eficiencia y reproductibilidad por la introducción directa de la vacuna en la nasofaringe, que por vía parenteral. Uno de los principales problemas es el evaluar el grado de seguridad de estos procedimientos cuando se administran a varios miles de individuos de diversas edades, diferentes antecedentes genéticos y estados de salud.

Finalmente, el uso de cualquier vacuna supone un serio problema cuando la frecuencia de la enfermedad contra la cual fue preparada, muestra una declinación. En virtud de que cualquier procedimiento de vacunación acarrea un riesgo, debe hacerse un balance entre el riesgo de con-

traer la enfermedad y el de reacción postvacunal. Esto es especialmente operante en la vacunación antivariolosa ya que no han habido casos en nuestro hemisferio desde 1971⁶ y se pronostica, para este año, su completa erradicación en el hemisferio oriental ¿Significa esto que la vacunación debe ser suspendida? De hecho la vacunación en los Estados Unidos de América ha disminuido⁶ ya que de un promedio de 12 millones de dosis anuales aplicadas durante los cinco años anteriores a 1971, bajó a 9 millones en 1972. Cuando recordamos la mortalidad tan alta de la viruela, deberían ser modificados los pensamientos de discontinuar la vacunación. La respuesta quizá radique en investigaciones posteriores tendientes a lograr una mejor vacuna, una que presente menor riesgo de reacción y que pueda mantener la inmunidad en un nivel que prevenga la recurrencia de esta pavorosa enfermedad.

REFERENCIAS

1. Hayflick, L.: *Cell substrates for human vaccine preparation—General comments*. En: *Cell Cultures for virus vaccine production*. Bethesda, Md. National Cancer Institute (U.S.A.) Monograph, 29, Dic. 1968, p. 83.
2. Mann, G. F.: *Establecimiento de un nuevo sistema de cultivo de células en capas perfundidas. I. Diseño y principios operativos*. Bol. Ofic. Sanit. Panamericana. 74:48, 1973.
3. Wiktor, T. J.: *New vaccines and the future of rabies prophylaxis*. Intern. Conf. in Appl of Vaccines against Viral, Rickettsial, and Bact. Diseases of Man. PAHO Scient. Publ. No. 226, p. 66, 1971, Washington, D. C.
4. *Tests of HDC (human diploid cell) rabies vaccine yield very promising results*. WHO Journal, No. 12, p. 1, 1975.
5. Schild y col.: *Influenza virus antigenic variation*. Bull. WHO. 51:111, 1974.
6. Rodríguez, B. A.: *Smallpox eradication in the Americas*. Bol. de la Org. de Salud Panamer. 9:53, 1975.
7. Provost, P. J.; Wolanski, B. S.; Miller, W. J.; Ittensohn, O. L.; McAleers, W. J. y Hilleman,

- M. R.: *Physical, chemical and morphological dimensions of human hepatitis a virus strain CR 326*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 148: 532, 1975.
8. Maugh II, T. H.: *Hepatitis B: A new vaccine ready for human testing*. Science. 188:137, 1975.
9. Chanock, R. M.; Kapikian, A. Z.; Perkins, J. C. y Parrott, R. H.: *Vaccines for nonbacterial respiratory diseases other than influenza*. PAHO Scient. Proc. Conf. on Appl. Vaccines against Viral, Rickettsial and Bact. Diseases of Man, Washington, D. C., public. No. 226, 1971, p. 101.