

ESTADO ACTUAL DE LAS VACUNAS ANTIRRÁBICAS DE USO HUMANO Y VETERINARIO

Dr. PABLO MIGUEL CORNEJO (1)

Durante el último Seminario que se realizó en el Centro Panamericano de Zoonosis, en la ciudad de Buenos Aires, Argentina, en el mes de noviembre próximo pasado, Seminario auspiciado por la Organización Mundial de la Salud y mantenido por personalidades científicas de Europa, EE. UU. y Latinoamérica, al que tuve el honor de asistir, se realizó una actualización de todos los métodos de elaboración y control de vacunas antirrábicas tanto de uso humano cuanto de uso veterinario, al mismo tiempo que una evaluación de los resultados alcanzados hasta la fecha con los diversos tipos de vacunas hasta hoy empleadas y de aquellas vacunas en vías de investigación y experimentación.

De esta recopilación de datos y experiencias obtenidas en este Certamen, es que pretendo hacer una síntesis muy apretada de los aspectos más importantes y quizá menos conocidos por los usuarios de estas vacunas.

A partir de la primera vacunación antirrábica realizada casi como un acto heroico por ese gigante de la Micro-

biología del siglo pasado y que se llamó Luis Pasteur, allá por el año de 1885 en la persona de un niño gravemente mordido por un perro rabioso, utilizando vacuna con virus aislado y atenuado por el propio Pasteur, hasta el presente, mucho en verdad han realizado equipos de investigadores de todas las latitudes del mundo, tratando de remozar métodos y procedimientos tecnológicos, tanto en la elaboración cuanto en el control de estas vacunas, buscando uno o más tipos de ellas que garanticen eficacia e inocuidad fundamentalmente; sin embargo, tenemos que decirlo enfáticamente que este ideal no ha sido alcanzado todavía.

La trayectoria de investigaciones exitosas ha dejado hitos valiosos en el perfeccionamiento de este producto, otros trabajos están aún inconclusos y muchos están en pie de revisión científica. Cierto es también que el virus rábico, como muchos otros, trae apareja-

(1) Director del Departamento de producción biológica de los Laboratorios "FIFE", Quito.

do caracteres inherentes a su propia naturaleza, a su estructura, a exigencias culturales, a su capacidad antigénica, etc. que exigen cada vez mayor profundidad en la investigación para llegar a disponer, en un futuro cercano, un producto que deje de infundir recelos en quien recibe y expectativa en quien lo maneja.

TIPOS DE VACUNAS.--Todas las vacunas hasta hoy conocidas, de uso humano o veterinario, se reúnen en dos grandes grupos: vacunas inactivadas y vacunas atenuadas o modificadas.

VACUNAS INACTIVADAS.— Son

aquellas que contienen virus muerto. La semilla de producción empleada es siempre una cepa de "virus fijo", pudiendo ser la clásica de Pasteur, la P. V. la C. V. S. o cualquiera otra aislada y atenuada en el propio laboratorio productor, aunque esto último no es lo más recomendado ya que contraría la tendencia actual de los técnicos, de estandarizar las cepas de producción, la tecnología en la elaboración y los métodos de control.

El virus "semilla" se inocula en dilución adecuada en: cerebro de animales jóvenes o adultos de varias especies animales (conejos, ovejas, cabras),

TABLA I

CEPAS DE VIRUS Y TIPOS DE VACUNAS PARA USO HUMANO Y USO VETERINARIO

Cepas de virus rábico	Tejidos en que se cultivan	Vacunas inactivadas		Vacunas atenuad.	
		Humana	Veter.	Humana	Veter.
Fijo de Pasteur P. V. C. V. S. Otros fijos	Cerebro conejo, oveja, cabra, embrión pato, células primarias o líneas continuas	SI	SI	P	SI
Flury LEP (45-50 pasas) Flury HEP (180-200 pasas) Kelev (60-70 pasas)	Embrión de pollo	--	--	NO	SI
SAD (paseje ratón, cult. tej.) ERA (paseje ratón, cult. tej. hamster, pollo, riñón cerdo)	Células primarias Líneas continuas (cerdo, hamster, perro, etc)	--	--	--	--
		NO	NO	NO	SI

P = posible

en cerebros de ratones o de ratas blancas lactantes, en el de pollos de un día de vida, en embriones de pato o en células de tejidos animales, susceptibles todos ellos a la multiplicación del virus.

Después de un período prudente, estos tejidos proveen un material cargado de virus, el mismo que necesita ser tratado con agentes físicos (calor) químicos (fenol, formol, cloroformo, etc.) o ambos, para conseguir que el virus muera.

Desde 1954, cuando Fuenzalida y col.¹, introdujo con este fin, los rayos ultravioletas de adecuada potencia y longitud, generados en aparatos especialmente diseñados para el objeto, su empleo se ha difundido especialmente en los países latinoamericanos para la elaboración de la vacuna "Fuenzalida" de uso humano especialmente. Casi contemporáneamente Hartman y colaboradores² ponen en boga el uso de una nueva sustancia química inactivante del virus, la betapropiolactona, particularmente en la vacuna en cubrión de pato y luego en aquellas de origen enllivo de tejidos, perfeccionadas en el Instituto Pasteur de París.

1.—*Vacuna Ferni*³.—Es una suspensión acuosa-salina-buferada de tejido nervioso de ovejas al 5%, bajo la acción de virus fijo, inactivado por fenol al 1%, pero luego diluido para llevar la vacuna a 0,5% de concentración final del antiséptico.

Este tipo de vacuna, que siempre se le consideró de virus totalmente inactivado, hoy día se considera como

una vacuna inactivada pero con "virulencia residual".

La inactivación del virus requiere de 22°C. por 24 horas y luego 20°C. por espacio de 7 días.

La expectativa de esta "virulencia residual" así como la comprobada abundancia de factores encefalitogénicos, ha hecho a esta vacuna perder terreno en su uso.

2.—*Vacuna Simple*⁴.—Es una variante de la anterior. El material vacunal viene de cerebro de conejos o de ovejas, según sea destinada a uso humano o veterinario, respectivamente, inoculados con virus rábico fijo e inactivado por fenol, material suspendido en solución salina-buferada en proporción del 5%. El fenol tiene una concentración final en la vacuna del 0,2 -- 0,4% reforzado por merthiolato al 1 por 10.000.

En este tipo de vacuna la inactivación del virus es total y se combinan dos agentes: el calor del baño de maría a 20 -- 30°C. por una hora e incubación en cámara a 30°C. por espacio de varios días, más fenol al 0,5% que más tarde es diluido convenientemente.

3.—*Vacuna inactivada por luz ultravioleta*⁵⁻⁷.—Corresponde a la conocida con el nombre de "vacuna Fuenzalida", nombre dado en honor del investigador pionero del método hoy empleado en la mayoría de los países latinoamericanos.

La vacuna viene elaborada a partir de cerebros de ratones blancos lactantes inoculados con virus fijo Pasteur o C. V. S.

El material vacunal suspendido en agua bidestilada es sometido a la acción de lámparas U. V. convenientemente acopladas en un aparato diseñado para el objeto.

Los factores que juegan papel preponderante en este proceso de inactivación del virus rábico son:

a) la distancia a la que están colocadas las lámparas, de modo que la longitud de los rayos ultravioletas tenga acción efectiva y suficiente sobre el virus;

b) el grosor de la capa de vacuna líquida que se extiende sobre la superficie del cilindro de rotación no tiene que ser mayor de medio milímetro;

c) la velocidad y tiempo de exposición

de la película de vacuna adecuadamente calculada: alrededor de 240 ml. de vacuna por minuto con una velocidad de más o menos 1.000 r.p.m., para evitar así falta o exceso de acción de los rayos U. V. sobre el virus;

d) el flujo constante de la vacuna en circuito cerrado para garantizar la no contaminación del producto.

El uso de los rayos U. V. ha demostrado claramente la bondad de esta vacuna en dos fundamentales aspectos: la inactivación completa del virus y el mantenimiento integral de su capacidad antigénica.

La concentración final de tejido cerebral es de 1% y su título vírico alcanza a 10^{6-7} - 10^{7-8} /ml.

TABLA II
CARACTERISTICAS DE LAS VACUNAS PARA USO HUMANO

Tipo de vacuna	Inactivada por	Conc. tej.	Estéril Pureza	Controles Estandar		Potencia
				Inocuidad Seguridad	Título vir. Título inf.	
Fermi	Fenol 1% color	5%	Th. Sb.	Conejo rat. adul.	$10^{2-7}/0,03$ ml.	Habel-NIH
Semple	Fenol 0,5%	5%	Th. Sb.	conejo cobayo rat. adul.	10^6 /ml.	Habel-NIH
CRL (Fuenzalida)	U. V.	1%	Th. Sb.	rat. lac. rat. adul.	10^{6-8} 10^{7-8} /ml.	Habel-NIH
Embrión pato	Betapropiolactona 1:4.000		Th. Sb.	conejo rat. adul.	10^6 /ml.	Habel-NIH
Cultivo tejidos	Fenol, betapropiolactona		Th. Sb.	rat. adul.	10^7 10^{6-7} /ml.	Habel-NIH

U. V. = rayos ultravioletas; Th = Thieligcollate medium; Sb. = Sabouraud dextrosan agar o caldo; CRL = conejo ratón lactante; NIH = National Institute of Health.

El material cerebral proveniente de ratones o de ratas lactantes ha demostrado contener escasísima cantidad de sustancias alergizantes y encefalitogénicas, por cuya razón su empleo en el hombre se ha generalizado en forma extraordinaria como método de tratamiento ante y post exposición.

4.—*Vacunas inactivadas en cultivo de tejidos*⁵⁻⁶.—En estos últimos años, el cultivo de virus en células de tejidos animales, ha pasado de la fase simplemente experimental (estudio de la interacción celular, degeneraciones, inclusiones, citolisis) al empleo masivo de las propiedades y capacidades metabólicas de las células para la producción de varias vacunas, en este caso particular, de vacunas antirrábicas.

En las células de tejidos apropiados el virus se multiplica rápida y abundantemente; pronto se concentra mostrando títulos altos que aseguran riego poder inmunizante. Pero algo más hace del cultivo celular una esperanza remozada, es el hecho evidente de que estas vacunas pueden ser altamente purificadas, despojándolas de impurezas y de factores indeseables.

La multiplicación del virus rábico puede realizarse tanto en células primarias (riñones de cerdo, perro, hamster) cuanto de aquellas de línea continua (BHK, HK, HCD5 y otras más).

La detección del virus en estos cultivos se realiza todavía en ratones, como método aún no superado de titulación cuantitativa. Los métodos de inmunofluorescencia están tomando impulso en la detección del complejo

antígeno-anticuerpo como método cualitativo, pero no cuantitativo, por presencia de inclusiones intraprotoplasmáticas y efectos citopáticos, que reforzarían la tarea de detección de la multiplicación viral.

5.—*Vacunas inactivadas por betapropiolactona*⁷.—Hemos dejado entrever ya, que en la elaboración de vacunas antirrábicas inactivadas, hechas a base de tejido nervioso, embrión de pollo o cultivo de tejidos, lo ideal es reunir en este material vacunal tres propiedades básicas: pureza del antígeno, potencia e inactivación completa del virus.

Para algunos investigadores, la betapropiolactona es la sustancia química que mayores ventajas ha conseguido hasta ahora en estos propósitos, como lo han demostrado ya en el Instituto Pasteur de París y otros centros de investigación de varios países.

La betapropiolactona es una sustancia formada por condensación de la cetona con formaldehído, en presencia de zinc o de aluminio.

Desde 1951 se la viene utilizando por sus propiedades viricidas en la inactivación de varios virus que afectan al hombre y a los animales como: el del Newcastle de las aves⁸, de la poliomielitis humana, de la encefalomielitis equina, etc. con fines de producción de vacunas.

Desde hace algunos años se viene trabajando y produciendo vacunas antirrábicas inactivadas con esta sustancia.

La betapropiolactona actúa rápidamente sobre el virus rábico gracias a la propiedad que ella tiene de hidrolizarse en relativamente corto tiempo (2 horas a 37°C. y 4 — 5 días a 4°C.), en presencia de solución salina, desdoblándose en derivados del ácido beta-propiónico y del ácido hidraclílico o hidroxypropiónico, ambos de evidente acción viricida y, lo que es más importante, desprovistos de toxicidad.

Su acción produce inactivación del virus con carácter irreversible, al mismo tiempo que conserva inalterada su capacidad antigénica.

La betapropiolactona se la usa en concentración baja (1: 4.000) como viricida, resultando por esto, en cambio, escasamente bactericida, por cuya razón a las vacunas antirrábicas inactivadas por esta substancia hay que añadirles un antiséptico que generalmente es el fenol al 0,35%.

Actualmente están empleando profusamente la betapropiolactona en la inactivación del virus rábico, los laboratorios productores de vacunas origen "embrión de pato" de uso humano, destinadas a tratamientos ante y post exposición.

VACUNAS ATENUADAS O MODIFICADAS.—Son aquellas preparadas usando cepas de "virus fijo" o "virus modificado", provenientes de países serotipados de "virus calle" por embriones de pollo, como en el caso de las cepas Flury LEP y HEP, Kolev, o por países alternados por cerebro de ratón, de embrión de pollo y células de tejidos

animales, como en el caso de las cepas SAD y ERA.

Estas cepas atenuadas o modificadas, son avirulentas y se vuelven menos infecciosas cuando se inoculan por vía periférica; se multiplican activamente en el organismo huésped que les brinda condiciones adecuadas y alcanzan títulos de anticuerpos aún más altos que la mayoría de los conseguidos por las cepas de virus "calle" que les originaron.

Esta facultad de los virus atenuados es siempre de carácter cuantitativo, por lo mismo, su introducción en organismos animales exige una justa y prudente dosificación de los mismos. En otros casos, hay que considerar también la decisiva influencia del factor edad de los animales que reciben estos virus, como es el caso de las vacunas a cepa Flury LEP en perritos de edad inferior a los 3 meses, lo que está seriamente contraindicado.

Las vacunas a virus atenuado han de mostrar experimentalmente que son avirulentas para la especie y grupo de animales a los cuales va a aplicarse. Su uso hasta este momento está exclusivamente destinado a los animales, porque en ellos se ha podido comprobar que estos virus introducidos por vía periférica, se multiplican activamente produciendo una evidente enfermedad pero inaparente y asintomática, cuyo resultado final es una sólida plataforma inmunitaria post vacunal.

En el hombre esta capacidad no existe siempre, por lo mismo, su aplicación entraña peligro porque la enfermedad puede desarrollarse en forma

sintomática, si la dosificación del virus no es la estrictamente necesaria e indispensable.

Las vacunas a virus modificado tienen sobre aquellas a virus inactivado, al menos dos ventajas fundamentales:

a) requieren de pequeñas dosis en una sola inyección para dar niveles suficientes de anticuerpos, mientras se necesitan numerosas dosis (hasta 23 en algunos casos) de vacunas inactivadas;

b) la inmunidad conferida por las vacunas a virus atenuado o modificado es más sólida, más duradera y hasta se piensa que en ciertos casos sea per-

manente, mientras las vacunas inactivadas dan inmunidad menos sólida y siempre temporal.

CONTROL DE LAS VACUNAS ANTIRRABICAS^{2,3,4}. Estas vacunas como cualquier otro producto biológico, tienen que pasar en forma idónea por varias pruebas de control durante y después de su elaboración, para dar cumplimiento a taxativas regulaciones de los Organismos Nacionales e Internacionales de Control, antes de ser expuestas al consumo público.

Las pruebas a que se someten pueden resumirse en las siguientes:

TABLA III

CARACTERISTICAS DE LAS VACUNAS PARA USO VETERINARIO

Tipo de vacuna	Inactivada por	Modificada en	Conc. tej.	Controles Estandar		Potencia
				Enter.	Inoc.	
FERMI	Fenol 1% y calor	—	5%	Tb. Sb.	r.a. $10^{2-7}/0.03$ ml.	Habel NIH
SEMPLE	Fenol 0.5% bacteriopro- lactona 1: 4.000	—	5%	Th. Sb. conj. r.a. 10^6 /ml. cob.		Habel NIH Habel modif.
CRL (Fuen- zollida)	U. V.	—	5%	Th. Sb.	r.a. 10^{6-8} r.l. 10^{7-9} /ml.	Habel NIH
LEP HEP KEJ.FV	—	embrion de pollo	20 a 33%	Th. Sb. cob. M. S. p.j. 10^{4-5} /ml. gato	10^{1-5} r.a. 10^3	ARS (VBD) NYLAR

LEP = low egg passage (bajo pasaje); HEP = high egg passage (alto pasaje); Kejev = ceca de 60-70 pasajes; U. V. = rayos ultravioletas; Th. -- Thioglicol. medium; Sb. -- Saboraud dextrosa agar o caldo; M. S. = medios selectivos; r.a. -- ratón adulto; r.l. -- ratón lactante; p.j. = perro joven; cob. = cobayo; ARS = Agricultural Research Service (VBD: Veterinary Biological Division) NYLAR = New York Laboratories and Research).

1.—*De esterilidad bacteriológica*¹¹⁻¹².—Para descubrir eventuales contaminaciones bacterianas o micóticas ocurridas durante la elaboración o el envase de la vacuna. Para ello se emplean medios de cultivo internacionalmente establecidos como: thioglicolate medium, para descubrir gérmenes aerobios y anaerobios y Sabouraud dextrosa agar o caldo, para hongos. El tiempo de incubación y la temperatura son diferentes para estos dos tipos de cultivos.

Para las vacunas preparadas en embrión de pollo o de pato, se exige la siembra en medios selectivos para salmonelas y micoplasma de origen aviar¹³⁻¹⁴.

2.—*De inocuidad y seguridad*¹⁵.—Que ha de mostrar, en forma clara y concluyente, que la vacuna controlada es incapaz de producir reacciones locales y generales, y lo que es más, ha de mostrar en el caso de vacunas inactivadas que el virus está muerto y la vacuna exenta de partículas virales activas, excepción hecha de la vacuna Fermi, que como hemos visto antes, posee una "virulencia residual" que deberá ser controlada de acuerdo con los cánones internacionales.

En el caso de vacunas a virus atenuado o modificado, la prueba ha de mostrar que la carga vírica contenida es perfectamente viable pero incapaz de producir reacciones, síntomas y lesiones indeseables.

Para las vacunas de uso humano, las pruebas se realizan siempre en animales de laboratorio; en las de uso veterinario, en sujetos de la especie para

la cual ha sido preparada la vacuna y reforzada con pruebas en animales de laboratorio¹⁶⁻¹⁷.

3.—*Pruebas físico-químicas*¹⁸⁻¹⁹.—Están destinadas a comprobar algunas constantes de importancia en la vacuna: el pH, de cuya estabilidad depende el equilibrio de los componentes orgánicos y del virus, particularmente cuando éste es atenuado o modificado. El control químico establece la debida concentración de las diversas sustancias integrantes del producto (diluyentes, estabilizantes, antibióticos, adyuvantes, etc.).

Para las vacunas liofilizadas es imperativa la determinación de la humedad residual del producto, porque de ella depende en gran parte la integridad del virus contenido en dichas vacunas.

4.—*Titulación del virus o título de infectividad*²⁰⁻²².—Tiene por objeto establecer, por medio de tabulaciones y cálculos convencionales (Reed & Muench y Spearman — Karber) muy aproximativos, la capacidad infectante del virus contenido en el material vacunal. La titulación se realiza previamente a la inactivación, en las vacunas inactivadas, para deducir de sus resultados la capacidad antigénica probable de la vacuna luego de terminada. En las vacunas a virus atenuado o modificado se realiza, tanto en el proceso de elaboración cuanto al final, cuando la vacuna ha sido envasada y liofilizada.

Hay que dejar establecido el hecho

probado de que, el título vírico de una vacuna no siempre va paralelo al poder inmunogénico o protector de ella, por cuya razón a ninguna vacuna puede exonerarse de la prueba de potencia aún teniendo títulos aparentemente justificables para ello.

5.—Prueba de potencia o protección¹⁰.—Quizá la más importante de todas las pruebas en todos los productos biológicos, porque ella nos demuestra la bondad o la ineficacia de ellos en el campo práctico de su aplicación. Por esto es que todas las reglamentaciones al respecto son exigentes e imperativas en todos y cada uno de sus detalles.

Algunas consideraciones previas son necesarias de puntualizarse:

a) lo ideal sería, para el éxito de la prueba, utilizar siempre las respectivas especies animales para las cuales han sido elaboradas las vacunas, simulando al mismo tiempo condiciones inherentes a la infección natural y aplicación oportuna del tratamiento profiláctico.

En el control de las vacunas de uso humano estos dos factores están en orden inverso, porque la aplicación de la vacuna se realiza posteriormente a la exposición y no antes de que ella acontezca. Por otro lado, la confrontación de los animales inmunizados en la prueba de potencia se realiza generalmente con virus rábico "fijo" y no virus de "calle".

Las vacunas atenuadas o modificadas de uso veterinario se administran antes de la exposición en dosis simple y su eficacia está condicionada a la ca-

pacidad antigénica del virus vacunal, a su multiplicación, pero la confrontación, así mismo se realiza generalmente con virus "fijo";

b) son factores muy importantes de la prueba: su practicabilidad, bondad del material usado, costo y tiempo empleados. No todos los laboratorios están en capacidad de disponer de un enorme número de animales de laboratorio para la realización de la prueba, especialmente cuando hay que repetirla una y otra vez por incidencia de variables previstas o imprevistas;

c) es indispensable e imperativo, la estandarización de las pruebas de potencia y de los elementos que en ellas intervienen de modo que, al comparar los resultados de un lote de vacuna con otro en el mismo laboratorio o en otro diferente, estos resultados sean sensiblemente iguales.

La experiencia nos ha demostrado que, la variable quizá más importante en cualquier tipo de prueba de potencia, es el virus de confrontación empleado; no es despreciable la influencia categórica de la calidad de los animales de laboratorio y de los otros, empleados en las pruebas; hay diferencias notables aún dentro de las colonias de animales del mismo laboratorio y mucho más con aquellas de otros laboratorios.

PRUEBAS DE POTENCIA OFICIALES.—Para las vacunas inactivadas, las pruebas que rigen internacionalmente son: la de Habel² y la NIH². Estas dos pruebas son cuantitativas, pero a la inversa.

En la prueba original de Habel, todos los ratones en prueba reciben igual cantidad de vacuna y la confrontación se realiza con diluciones diferentes de virus. Al contrario, en la prueba NIH la inmunización de los ratones se hace con diluciones diferentes de vacuna, lo que vale decir, con diferentes cantidades de virus, mientras la confrontación utiliza un número pre-establecido de DL_{50} . Ambas pruebas requieren de un considerable número de ratones, tanto para el lote a inmunizarse, cuanto para el de control (testigos no inmunizados). Además, la prueba NIH exige un test comparativo de la vacuna en control con una "vacuna de referencia" proporcionada por laboratorios internacionales autorizados para ello.

Entre estas dos pruebas, hay una tercera de transición para aquellos laboratorios que teniendo que producir muchos lotes de vacuna relativamente pequeños pero frecuentes, no pueden disponer de grupos suficientes de ratones, esta es la prueba "modificada de Habel"². En este caso, se recomienda realizar una prueba completa de la "original de Habel" o NIH periódicamente.

Para las vacunas a virus atenuado, excepción hecha de las de origen embrión de pollo, pueden emplearse los mismos métodos descritos.

En las vacunas a virus modificado, origen embrión de pollo, se emplean:

1) para las de uso canino (virus LEP o Kelev) el método Koproski³⁻¹², inmunizando cobayos con vacuna liofilizada restituida como para uso en el

campo, con una sola dosis equivalente a 0,25 ml. y luego confrontando con virus rábico "fijo" o de "calles".

Se considera que una vacuna es satisfactoria si al final de la prueba cualquiera el 70% de los cobayos vacunados sobreviven por espacio de 21 días posteriores a la confrontación, sin mostrar síntoma alguno atribuible a la vacuna (parálisis), mientras los cobayos del lote de control deben morir o paralizarse en un 80%.

2) para las vacunas de uso bovino o felino (virus HEP) se realiza la prueba de potencia en ratones, inmunizándolos con diluciones de vacuna y confrontándolos con virus rábico "fijo".

Se considera satisfactoria una vacuna cuyo título de protección DE_{50} , no sea inferior a $10^8/0,03$ ml, determinado por el método de Reed & Muench¹³;

3) un nuevo test ha sido preconizado últimamente para estos dos tipos de vacuna a virus modificado, es el método NYLAR¹⁴.

El test se realiza en ratones vacunándolos con una sola dosis, por vía intraperitoneal y confrontándolos con virus rábico "fijo", por vía intramuscular. Este método, como el NIH, impone el uso de una "vacuna de referencia" de adecuada potencia, no inferior a una protección DE_{50} de $10^8/0,03$ ml.

LIOFILIZACION DE LAS VACUNAS ANTIRRABICAS

En las vacunas a virus LEP y HEP, el mantenimiento integral del virus se consigue con la liofilización, esto es, la

sublimación del material vacunal comenzando por un severo proceso de congelación seguido de una larga fase de estricto vacío y terminando con la fase de calefacción. El ciclo completo tiene que cumplirse en alrededor de 24 horas dentro de las mayores exigencias para asegurar que el producto final no contenga más de 1% de humedad residual.

Desde hace un tiempo se ha venido insistiendo en la bondad de este proceso también para las vacunas inactivadas. En efecto, en Rusia se han realizado muchísimos trabajos al respecto llegando a la conclusión de que la liofilización permite a estas vacunas períodos largos de conservación manteniendo en buenas condiciones el poder antigénico de este virus. El Instituto Pasteur de París ha realizado también trabajos similares con la vacuna Fermi, igual cosa han hecho Kabat y sus colaboradores y muchos investigadores más. Los resultados conseguidos por todos ellos han sido en general satisfactorios.

Los trabajos de los investigadores rusos se hicieron utilizando vacunas inactivadas, de cerebro de rata lactante, libre de factores alergizantes; independientemente en nuestra América, Fuenzalida y Palacios, desde 1955, han verificado iguales trabajos con su propia vacuna, origen cerebro de ratones lactantes, virus "hijo" de más de 3.200 pasas por cerebro de conejo e inactivación por rayos U. V. Todas las vacunas ensayadas han tenido un denominador común, el uso de sacarosa y gelatina, en diversas proporciones, utili-

zadas como substratum para el proceso de liofilización.

Sobre las ventajas de estas vacunas inactivadas y liofilizadas no se ha llegado a conclusiones definitivas; pues hay conceptos todavía controvertidos: para unos investigadores el fenol de las vacunas inactivadas destruiría el virus durante la liofilización. Por otro lado, hay resistencia para usarlas porque se sostiene que han demostrado en la práctica aumento en número y en intensidad de las reacciones indeseables post vacunales, mientras los pagniristas del método sostienen lo contrario basados en los resultados de pruebas experimentales realizadas en cobayos.

COMPLICACIONES POST-VACUNALES

Hay que decirlo como premisa, que las vacunas antirrábicas constituyen el material biológico quizá más impuro que el médico aplica a los seres humanos²⁶⁻²⁷⁻²⁸. Por ello muchos esfuerzos están convergentes en el común empeño de alcanzar nuevos tipos de vacunas ya purificadas. En estos últimos años se han dado pasos firmes al respecto y sus halagadores resultados nos presagian un esperanzado futuro al respecto.

Las reacciones indeseables post vacunales pueden ir desde una simple reacción local hasta reacciones de tipo alérgico con encefalitis, encefalomielitis, desmielización, parosias y parálisis.

Las vacunas que tienen origen en tejido nervioso de animales adultos (tipos Fermi, Semple) son las que dan

relativamente mayores reacciones; en grado menor aquellas origen embrión de pato y quizá las más inocuas resultan ser las vacunas preparadas con cerebros de ratas y ratones lactantes y las de cultivo de tejidos, inactivadas por U. V. o por betapropiolactona.

Parece que las vacunas producidas en cultivo de tejidos, dada la pequeña destrucción que sufren las células por efecto de la multiplicación del virus, están casi exentas de material proteínico extraño, por lo mismo, se prestan más para la purificación por métodos extractivos.

Larghi²² ha trabajado algún tiempo con vacuna Fuenzalida, utilizando la centrifugación y la cromatografía en ceteola-celulosa, resultado de lo cual consiguió un producto purificado al que llamó, con fines investigativos, VAP (vacuna antirrábica purificada) que según él contenía 60 veces menos fosfolípidos que la VEP (vacuna embrión de pato) y 350 veces menos que la VTN (vacuna tejido nervioso).

Trabajos parecidos realizaron Santi y sus colaboradores²⁴, utilizando igualmente vacuna tipo Fuenzalida. Para el proceso de purificación emplearon gnetrón y freón 13 para disgregar y luego centrifugar a 18.000 r.p.m. Los resultados fueron evidentes y halagadores; el dosaje químico dió los siguientes datos: de 3,6 grs. x 1.000 de proteínas totales de la vacuna impura bajó a 0,5 x 1.000 en la purificada, de 0,2 grs. x 1.000 de estingomicina bajó a 0,01 gr. x 1.000 y de 1,5 grs. x 1.000 de lípidos totales a 0,09 grs. x 1.000.

Estas y otras muchas investigacio-

nes más con resultados halagadores nos hacen pensar con optimismo en que está cerca el día en que el peligro de las reacciones indeseables post-vacunales queden solamente como una pesadilla ya superada.

CONCLUSIONES

1) Hasta ahora queda establecido como hecho evidente, que como agente físico los rayos U. V. y como agente químico la betapropiolactona, son los más recomendables en la inactivación del virus rábico.

2) Las vacunas antirrábicas, origen tejido nervioso de animales adultos, son las más ricas en substancias portadoras de factores encefalitogénicos.

3) Las vacunas, origen cerebro de ratas y ratones lactantes así como aquellas de embrión de pato y cultivo de tejidos, son las más puras.

4) Estas mismas vacunas demuestran concentraciones mayores de virus y títulos mucho más altos que aquellas de tejido nervioso de animales adultos; consecuentemente, se requiere de menores cantidades de material vacunal y de menor número de inoculaciones.

5) Las vacunas origen cultivo de tejidos han demostrado ser las más adecuadas para el proceso de purificación.

6) Mientras no se disponga de vacunas purificadas y exentas de factores alergizantes, encefalitogénicos y neuropáticos, estos productos continuarán entrañando eventuales peligros en la aplicación clínica en la especie humana.

RESUMEN

1) Las vacunas de tipo clásico preparadas con cerebro de animales adultos, se emplean todavía en buena escala en todo el mundo, pese a los eventuales problemas inherentes a la impureza de estos productos.

2) Las vacunas provenientes de cerebros de animales lactantes inactivadas por rayos U. V. y las de embrión de pato inactivadas por butapropiolactona, se han generalizado mucho, las primeras en los países latinoamericanos y las segundas en los EE. UU. desplazando a las clásicas.

3) Las vacunas inactivadas, origen cultivo de tejidos, son objeto de profunda investigación porque pueden ser las vacunas del futuro en la profilaxis de la rabia humana; pues, en la Medicina Veterinaria ya ocupan lugar preferente algunos de sus tipos.

4) Se prueban actualmente varios tipos de vacunas purificadas por diversos sistemas con miras a generalizar su uso en el hombre, ya que experimentalmente han dado promisorios resultados.

5) Las vacunas a virus atenuado o modificado, origen embrión de pollo y cultivos celulares, preparadas con cepas Flury, ERA y "fijo" de Pasteur, han pasado satisfactoriamente las pruebas de laboratorio y las dos primeras son de amplio uso en Medicina Veterinaria.

6) Probablemente los futuros trabajos pretenden llegar a disponer de vacunas vivas atenuadas que den inmunidad permanente con una sola do-

sis y que sean aplicables tanto al hombre como a los animales sin distinción de edad.

7) El uso de una sola dosis de vacuna viva atenuada o modificada en el hombre, posterior a la exposición, se considera inconveniente por el tiempo que necesita el organismo para una respuesta inmunitaria asintomática y de corta duración.

Por otro lado, se piensa que este procedimiento eliminaría la posibilidad de continuar usando el suero hipérimune como medio terapéutico de emergencia y de mayor seguridad en una exposición grave, ya que los anticuerpos probablemente neutralizarían la acción del virus en su proceso de multiplicación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 FUENZALIDA, E. y FALACIOS, R.: Un método mejorado en la preparación de la vacuna antirrábica. Bol. Inst. Bac. Chile 8: 3 - 10, 1955.
- 2 HARTMAN, F. W., PIEPPES, S. J., WALBAK, A. M.: Virucidal and bactericidal properties of butapropiolactone. Proced. Proceedings, 10: 258, 1951.
- 3 ATANASIU, DEAN, HABEL, KAPLAN y OTROS: Laboratory Techniques in rabies. Second Edition. World Health Organization, Geneva, 1966.
- 4 FUENZALIDA, E.: Estado actual de desarrollo de la vacuna antirrábica preparada de cerebros de ratones lactales en Latinoamérica. XVIII Congreso Mundial de Medicina Veterinaria, París, 1967.
- 5 ABELSETH, M.: An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. Can. Vet. J. 5: 279, 1961.
- 6 HUMMELER, K., KOPROSKI, H., WIKTOR, T. J.: Structure and development of rabies virus in tissue culture. J. Virol. 1: 352, 1967.

- 7 ATANASIU, P., GAMET, A., LEPINE, P.: Vacunas antirrábicas para uso humano y veterinario inoculadas con heptapropiolectina. Técnica del Instituto Pasteur, París. Seminario Internacional sobre producción y control de vacunas antirrábicas. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1969 (en prensa).
- 8 LEPINE, P., ATANASIU, P.: Sur le valeur antigénique et vaccinale du virus de Newcastle inactive par le heptapropiolectine. *Ann. Inst. Pasteur*, 91: 109, 1956.
- 9 PECK, F. B., POWELL, H. M., COLBERTSON, C. G.: A new antirabies vaccine for humane use. Clinical and laboratory results using rabies vaccine made from carbonated chick eggs. *J. Lab. Clin. Med.* 45: 679, 1955.
- 10 KRAVCHENCO, A. T., VASSILEVA Y OTROS: Minimum requirements and method of control of rabies vaccines in U.R.S.S., Some Congress Intern. on Med. Trop. et malarie Tehrán, 1965.
- 11 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE — VETERINARY BIOLOGICS DIVISION — STANDARD REQUIREMENT. P-14 y P-15.
- 12 BIOLOGICAL PRODUCTS PUBLIC HEALTH SERVICE REGULATIONS. TITLE 42. U. S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE, 18: 73.73, Revised 1965.
- 13 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS. P-30, Abril, 1969.
- 14 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS. P-57, August 1966.
- 15 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS V-10, April 1960.
- 16 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS. P-47, Jun. 1967.
- 17 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS. V-60, Set. 1969.
- 18 U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. VETERINARY BIOLOGICS DIVISION. STANDARD REQUIREMENTS. V-11, Jan. 1975.
- 19 CABASSO, V.: Prueba de potencia de vacunas LEP y HEP. Seminario Internacional sobre producción y control de vacunas antirrábicas. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1969 (en prensa).
- 20 ATANASIU, P.: Vacunas antirrábicas. Complicaciones post-vacunales. Seminario Internacional sobre producción y control de vacunas antirrábicas. Buenos Aires, Argentina, 1969 (en prensa).
- 21 HAEBEL, K.: Vacunas antirrábicas. Primer Seminario Internacional sobre rabia para las Américas. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1967, pág. 260.
- 22 LARGHI, O. P.: Vacuna antirrábica purificada. Primer Seminario Internacional sobre rabia para las Américas. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1967, pág. 300.
- 23 SANTI, J. C.: Comentarios e informes Primer Seminario Internacional sobre rabia para las Américas. Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, 1967, pág. 304.