

Supervivencia de los virus en los cadáveres de los ratones infectados

I Virus de la encefalomiелitis equina tipo Oeste y "A" de influenza

por F. C. Pennimpeде y Armando S. Parodi*

Como consecuencia de la falta de información concerniente a la persistencia de los virus en los cadáveres de los animales susceptibles, infectados natural o experimentalmente, hemos considerado conveniente iniciar un estudio sistemático del tiempo de viabilidad de algunos virus en esas condiciones.

MATERIAL Y MÉTODO

Los virus usados fueron: encefalitis equina tipo oeste, cepa del Instituto Rockefeller, que lleva numerosos pasajes por ratón y que se conserva a -76°C .; el virus de influenza A fué la cepa 7, aislada durante una epidemia local (1) adaptada también a ratón por numerosos pasajes y que se conserva en las mismas condiciones que la anterior.

La inoculación con la cepa de encefalitis fué hecha por vía intracerebral en dosis de 0,03 ml., considerando muertos específicamente a los ratones que sucumbieron desde las 48 horas posteriores a la inoculación.

El virus de influenza se inoculó por vía intranasal, en dosis de 0,05 ml. previa ligera anestesia con éter. Se consideraron muertos a causa de la infección aquellos ratones que murieron desde el 3er. día, consecutivo a la infección.

Los cerebros infectados con encefalomiелitis se trituraban con alundum y se suspendían en solución fisiológica y suero normal de

(*) De la Sección Virus del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán", Secretaría de Salud Pública de la Nación.

conejo en una concentración al 10 %. Para eliminar la posible contaminación bacteriana se centrifugaba antes de ser inoculada, 10 minutos a 1.500 rpm., luego 15 minutos a 5.000 rpm. y por último se filtraban por bujías L3.

Con el virus de influenza se trituraron los pulmones con alundum y la suspensión se hizo al 20 % en caldo con 20 % de suero normal de caballo. Para este último virus se inoculó como control, un grupo de ratones con suspensión de los pulmones a la cual se le agregaba una cantidad equivalente de inmuno suero de cabra.

El período de observación de los animales se prolongó durante 10 días registrándose diariamente las muertes. En los ratones inoculados con virus de influenza se investigó siempre la presencia de lesiones típicas en los pulmones de los cadáveres o de los sobrevivientes al décimo día.

Se llevó un registro diario de las temperaturas que fué proporcionado por la Dirección Nacional de Meteorología de la Secretaría de Aeronáutica.

EXPERIMENTACIÓN

Encefalitis equina tipo oeste. — En los cuadros 1 y 2 mostramos los resultados de experimentos hechos conservando el cadáver de ratón a temperatura ambiente o a 4°C., indicando las variaciones térmicas diarias que había sufrido los cadáveres antes de que se le extrajese el material para la inoculación. En el cuadro N° 3 mostramos el resultado de inoculación de una suspensión del mismo virus que había sido conservada a temperatura ambiente. Se demuestra en estos experimentos que el virus de encefalitis equina tipo oeste no persiste en el cadáver de ratón conservado a temperatura ambiente más allá de las 24 horas, pues fué positivo en un caso y negativo en otro, aunque eventualmente se registró la muerte de algún animal en días posteriores. Los cadáveres conservados a 4°C. demostraron tener virus activo hasta las 120 horas en que se puso término el experimento.

Los resultados obtenidos con la inoculación de la suspensión de virus mantenida a temperatura ambiente demostraron resultados similares a los de los cadáveres.

Influenza. — En los cuadros 4, y 5 se consignan los resultados de los experimentos realizados con cadáveres de ratones infectados con virus A de influenza. Tanto en uno como en otro se observa que el virus de la influenza persiste en los cadáveres de ratones o en la suspensión de virus un tiempo considerable que nuestros experimentos llegó hasta las 240 horas (10 días) (en otro experimento similar llegó hasta los 15 días) sin que hasta ese tiempo se notara inactivación del virus.

CUADRO N.º 1

CADÁVERES DE RATONES MANTENIDOS A TEMPERATURA AMBIENTE

Horas después de muertos	Día de muerte	Temperatura ambiente °C		
		Mx.	Min.	Md. ***
4	1. 3. 3. 3. 4. 5. *	28	13	19
24	4. 4. 4. 4. 4. S. **	26	16	19
72	2. 3. S. S. S. S.	16.5	3.1	11.4
96	1. S. S. S. S. S.	21.5	11	15

* Los números indican el día de muerte.

** S = Supervivencia

*** Mx. = temperatura máxima.

Mn. = temperatura mínima.

Md. = temperatura media.

CUADRO N.º 2

CADÁVERES DE RATONES A 4°C Y A TEMPERATURA AMBIENTE

Horas después de muertos	Temperatura	Día de muerte	Temperatura ambiente °C.			Día de muerte
			Mx.	Mn.	Md. ***	
0	—	—	26.3	18.6	21.6	—
24	4°C	1. 2. 3. 3. 3. 3. 3. 4. *	28	18.2	22.3	1. 1. SSSSSS**
48	4°C	2. 2. 3. 4. 4. 5. 7. S	29.5	17.7	21.9	3. 3.
72	4°C	2. 3. 3. 3. 3. 5. 5.	22.3	17.6	19.6	4. SSSSSS
96	4°C	2. 2. 2. 3. 3. 4. 4. 4.	27.9	16.5	20.9	1. 8. SSSSSS
120	4°C	2. 2. 3. 3. 3. 4. 4. 6.	20.7	16.5	18.2	3. SSSSSS

*, **, *** = Ver cuadro N.º 1.

CUADRO N.º 3
SUSPENSIÓN A TEMPERATURA AMBIENTE

Horas	Día de muerte	Temperatura ambiente °C		
		Mx.	Mn.	Md. ***
0	—	21	10.9	14.4
24	3.4.5.7.*	22.9	7.9	15.1
48	3.S.S.S.**	23.0	10.4	14.5
96	1.1.S.S.	24.0	14.4	17.8
120	S.S.S.S.	16.7	9.1	12.6

*, **, *** = Ver cuadro N.º 1.

CUADRO N.º 4
CADÁVERES DE RATONES CONSERVADOS A TEMPERATURA AMBIENTE Y SUSPENSIÓN
A TEMPERATURA AMBIENTE

Horas después de muertos	RATONES			SUSPENSIÓN
	Tempe- ratura	Días de muerte	Testigos con suero in- mune *	T. A. Días de muerte
24	4 C°	5.6.6.6.7.7.7.8.	—	—***
	T.A.**	4.4.4.4.5.5.5.6.	—	6.6.7.7.7.7.7.8.
48	4 C°	4.4.4.4.5.5.5.S.	1/7*	—
	T.A.	4.4.4.5.5.6.6.7.	0/8	6.6.6.6.6.7.7.S.
72	4 C°	4.4.5.5.5.6.6.S.	0/8	—
	T.A.	3.4.4.4.5.5.7.7.	0/8	5.5.5.5.5.6.7.10.
96	4 C°	3.3.4.4.4.4.6.6.	0/8	—
	T.A.	4.5.5.6.6.6.7.8.	1/8	—

Máxima 21.25°C.

Temperaturas: Mínima 5-14°C

Media 12-18°C

* = Numerador indica el número de animales muertos, el denominador el número de animales inoculados.

** T.A. = Temperatura ambiente.

En estos experimentos (cuadros 4 y 5) no se consignan variaciones diarias de temperatura por ser muy uniforme.

*** = No se realizó.

CUADRO N.º 5

CADÁVERES DE RATONES CONSERVADOS A 4°C Y A TEMPERATURA AMBIENTE
SUSPENSIÓN A TEMPERATURA AMBIENTE

Horas después de muertos	RATONES			SUSPENSIÓN	
	Temperatura	Días de muerte	Testigos con suero inmune	Días de muerte	Testigos con suero inmune
48	4 C° T.A.**	— —	— —	—*** 4.4.5.6.	— 1/4*
72	4 C° T.A.	4.4.5.5.5.6.7.S. 4.4.5.5.6.6.7.S.	0/8 0/8	— 2.4.5.6.	— 0/4
96	4 C° T.A.	4.4.5.5.5.5.6. 4.4.5.5.5.5.S.	0/8 0/8	— 4.4.4.6.	— 0/4
120	4 C° T.A.	3.4.4.4.4.4.5.6. 3.3.3.4.4.5.5.5.	0/8 0/8	— 5.6.9.9.	— 0/4
144	4 C° T.A.	4.4.4.5.5.6.S.S. 4.4.5.5.5.5.6.	0/8 0/8	— —	— —
168	4 C° T.A.	4.4.5.5.5.6.6.7. 4.4.4.6.6.7.8.10	0/8 0/8	— 2.3.3.5.	— 1/4
216	4 C° T.A.	— —	— —	— 1.5.7.S.	— 0/4
240	4 C° T.A.	— —	— —	— 4.6.7.7.	— 0/2

Temperaturas: Máxima 10.3 - 17.5°C
Mínima 3.9 - 10°C
Media 6 - 12°C

*, **, *** = Ver cuadro N.º 4

DISCUSIÓN Y RESUMEN

Las experiencias en los cuales se estudia la viabilidad del virus a distintas temperaturas han sido realizados con suspensiones de órganos mantenidas a 37°C. o a 56°C. Temperatura esta última, que parece ser límite cuando la exposición dura alrededor de 30 minutos. Algunos virus, sin embargo, a esta temperatura sólo son parcialmente inactivados (2) (psitacosis).

En cambio, no conocemos ninguna observación de la acción de las distintas temperaturas sobre el virus mantenido en el cadáver del animal infectado.

En estas condiciones los factores de inactivación o de conservación del virus son naturalmente mucho más complejas que cuando se mantienen en suspensiones fuera del cadáver, pues además de reacciones enzimáticas que tienen lugar durante la putrefacción cadavérica, se unen la presencia de bacterias que casi siempre están implicadas en este proceso.

Nuestros resultados indican que los virus tienen susceptibilidades muy diferentes a las temperaturas, pues el de la encefalomiелitis equina es de corta supervivencia (24-48 horas), en tanto que el de la influenza puede persistir hasta más de 360 horas (15 días).

Se deduce también de nuestros experimentos que la permanencia en el cadáver no modifica la virulencia del virus, no reduciendo el período de incubación en los animales.

En resumen podemos decir lo siguiente:

1º — El virus de la encefalomiелitis equina tipo oeste sobrevive en las suspensiones mantenidas a temperatura ambiente (T. Media 14-24°C.) no más de 48 horas. En cambio a 4°C. hasta las 120 horas.

2º — En los cadáveres conservados a idénticas temperaturas los resultados son semejantes.

3º — Que aparece como factor principal en la desaparición del virus de la E. E., la temperatura, a la cual éste fué expuesto.

4º — Que el virus de la influenza es muy persistente en el cadáver y en las suspensiones mantenidas a las temperaturas expresadas, 168 horas para los cadáveres y 240 horas para las suspensiones.

BIBLIOGRAFÍA

1. SORDELLI A., TAYLOR R. M. y PARODI A. S. — Rev. del Inst. Bact., 1941, **10**, 265.
2. GORDON M. H. — Lancet 1930, **I**, 1174.