

Vacunación antipestosa experimental con bacterias vivas

Por E. SAVINO y B. ANCHEZAR

El problema de la vacunación antipestosa ha adquirido últimamente singular interés principalmente a raíz del empleo de bacterias vivas por Girard y Otten. Con el objeto de contribuir al conocimiento de este problema, presentamos este trabajo sobre los resultados obtenidos en la vacunación antipestosa experimental del cavia con las cepas E. V. de Girard y Tjiwidej de Otten.

ANTECEDENTES

Los ensayos de vacunación contra la peste con bacterias vivas se recontan al año 1899 en que Pfeiffer y Dieudonné inmunizaron monos por inoculación de cultivos de peste atenuados en su virulencia por calentamiento a 50°C o por el agregado de pequeñas cantidades de fenol. Los resultados obtenidos por estos autores demostraron que la vacunación no había conferido ninguna inmunidad a los animales. También vacunaron monos por inoculación de pequeñas cantidades de un cultivo más virulento que el anterior pero los resultados tampoco fueron satisfactorios.

Yersin y Carré (1900) aislaron de cultivos viejos de peste colonias de bacterias cuyos cultivos inoculados a ratas las mataban en un 20 % ; los animales que sobrevivían a la vacunación eran resistentes a la infección pestosa. También vacunaron 18 monos con un cultivo que mataba del 40-50 % de las ratas, sin que los monos presentaran mayores molestias por la vacunación. Yersin, con una lanceta se inoculó él mismo estos microorganismos de peste de virulencia atenuada; no presentó ninguna reacción local ni ganglio y sólo tuvo el 2º día un ligero decaimiento con fiebre. Yersin trató de aplicar su vacuna al hombre en China; pero la resistencia ob-

Recibido para publicarse en Agosto de 1939.

servada por los habitantes y la corta duración del brote de peste le impidió realizar este ensayo.

Albrecht y Gohn (1900) vacunaron caviar, ratas grises y monos con cultivos de peste de virulencia atenuada, pero los resultados obtenidos permiten deducir que la vacuna empleada era poco eficaz.

Kolle y Otto (1903); Kolle, Hesteh y Otto (1904), utilizaron la vacunación experimental dos cepas: una atenuada espontáneamente y otra cepa atenuada artificialmente que, como la anterior, era patógena para el cavia. Estos mismos autores emplearon la cepa «Maassen V» obtenida por desarrollo de un cultivo de peste a una temperatura 40-41°C. Esta cepa que era avirulenta para el cavia, inmunizaba caviar y ratas contra la infección pestosa.

Strong (1906-1908) realizó ensayos de inmunidad antipestosa experimental con bacterias vivas empleando las cepas «Maassen alt» y «Maassen V». Primero ensayó la vacuna en caviar y monos (*Cynomolgus philippinensis*) y más tarde la extendió al hombre inoculando a 200 personas.

Pirie (1927) ensayó bacterias vivas en la vacunación experimental en gerbos (*G. lobenguloe*).

Girard (1931) estudió el poder vacunante de una cepa de peste avirulenta (cepa Pecha) y observó que no confería ningún grado de inmunidad al cavia. Este mismo autor publicó, en 1932, los primeros resultados obtenidos en la vacunación de caviar por bacterias vivas de *P. pestis* con el empleo de la cepa E. V. Esta cepa confería inmunidad al cavia aún después de tres meses de vacunados, mientras que la vacuna Haffkine o la cepa E. V. muerta por calor, iodo, fenol, formol o éter, no confería ninguna protección a estos animales. En el año 1934, Girard y Robic comunicaron sus resultados a la Academia de Medicina de París. La cepa E. V. fué aislada en Tananarive (Madagascar) en 1926 de un caso mortal de peste ganglionar, se atenuó espontáneamente por siembras mensuales en agar durante 5 años y por desarrollo a una temperatura de 18-20°C. Una vez desarrollados los cultivos eran conservados en heladera.

Otten (1934) estudió el poder vacunante de una cepa aislada de una rata pestosa encontrada muerta, en Tjiwidej, en el altiplano occidental de Java. Esta cepa después de ser pasada por rata y conservado el cultivo de agar, después de 4 meses perdió por completo su virulencia.

Girard (1935) publicó los resultados obtenidos en Madagascar en la vacunación del hombre por la cepa E. V., la técnica seguida en la preparación de la vacuna para uso humano y su fiscalización.

Llama la atención el autor, sobre el hecho que la inoculación intraperitoneal al cavia, provocó en el 5° ó 6° día la aparición de pequeños nódulos en hígado y principalmente en bazo; esta formación de carácter inflamatorio sería provocada sólo por aquellas cepas de *P. pestis* de virulencia atenuada y caracterizadas por poseer poder vacunante.

Otten (1935) publicó los resultados obtenidos en la vacunación antipestosa del hombre por bacterias vivas y estudia el poder inmunizante de las variantes «S» y «R» de la cepa Tjiwidej. Encuentra que la variante «S» tiene un poder vacunante superior al de la forma «R».

En 1936, De Vogel hace referencia a algunos aspectos de la vacunación antipestosa, en Java, por bacterias vivas y por el empleo de la cepa de *P. pestis* estudiada por Otten.

Otten (1936) examinó los resultados sobre la vacunación experimental de caviás y ratas grises por la cepa «*Tjiwidej*». Inmunizó estos animales por inoculación subcutánea (3 inoculaciones a una semana de intervalo) de 1/50, 1/10 y 1/5 de cultivo en agar respectivamente. El 80 % de las ratas grises y el 90 % de los caviás sobrevivieron a la vacunación. Después de la 3er. semana de la última dosis inmunizante, determinó el grado de inmunidad inoculando 1 ml. de una dilución 10^{-5} de un bazo de rata muerta por peste. Vacunó también caviás por inoculación de 1/5 a 1/1.000 de cultivos en agar y el 90 % de los animales vacunados sobrevivieron a la infección pestosa. Otten también estudió la cepa E. V. y observó que aproximadamente el 20-30 % de los caviás inoculados intraperitonealmente con 1/3 de cultivo de agar murieron a consecuencia de la vacunación. La mortalidad por peste en las personas vacunadas con la cepa Tjiwidej fué un 20 % menor que en los no vacunados; sin embargo, las cifras no parecen ser significativas en lo que se refiere al número de casos de peste pulmonar en vacunados y no vacunados. La vacunación se practicó en personas mayores de 1 año, a las que se inoculó 1/10 de cultivo de agar hasta los 13 años, y 1/5 (3.000 millones de bacterias) para mayores de 13 años.

Girard y Robic (1936) hicieron notar que la mortalidad por peste en Madagascar se redujo en 2/3 en los vacunados en relación a las personas que no fueron vacunadas y no hubo ningún caso de peste pulmonar en vacunados, mientras que se registraron 17 en los no vacunados. Los casos de peste en individuos vacunados presentaron la particularidad de que la septicemia fué menos frecuente que en los casos de peste en personas sin vacunar; en los gan-

glios había tan poca cantidad de bacterias que en el 50 % de los casos sólo se pudo demostrar la presencia de *P. pestis* por el método de la inoculación al cavia.

En el trabajo que publicó Girard en 1937 hace notar la importancia del foco de peste de Madagascar donde, en quince años (desde 1922), hubo alrededor de 20.000 casos mortales. En 5 años de aplicación al hombre de la vacuna E. V. han vacunado alrededor de 1 millón de personas.

Sokhey y Maurice (1937) estudiaron la vacunación experimental en el ratón blanco por bacterias vivas y muertas al calor de 15 minutos a 55°C. Los autores de este ensayo emplearon una misma cepa de *P. pestis* virulenta que utilizaron como vacuna una vez muerta por el calor; por otra parte a un cultivo de esta misma cepa lo hicieron avirulento después de 60-70 pasajes semanales en agar a 37°C ó por cultivo en caldo durante 10 pasajes semanales a 37°C. Este cultivo una vez atenuado no mató al ratón blanco cuando se inocularon 1.500 millones de bacterias por vía venosa. Los autores llegaron a la conclusión de que la vacuna muerta por el calor tiene un poder vacunante superior al de las bacterias vivas. Además sostienen que por calentamiento de 1 h. a 60°C se destruye casi por completo el poder antigénico de la vacuna.

Girard (1937) estudió la vacuna E. V. y Tjiwidej, y sostiene que la primera confiere al cavia una inmunidad más sólida y durable; en cambio, si el experimento se realiza con ratas grises la vacuna de Java es superior en su acción protectora. En 600.000 aplicaciones al hombre de la vacuna sólo en dos casos observó un absceso del pequeño nódulo subcutáneo que aparece en el sitio de aplicación de la vacuna y que se reabsorbe en 15 días; en otro caso observó una marcada reacción general con temperatura de 40°C durante 2 días y estado de confusión mental. Estas 3 reacciones se produjeron en sujetos de origen europeo y de edad avanzada. Girard sostiene que por efecto de la vacunación ha disminuido el número de casos de peste ganglionar susceptibles de dar complicaciones pulmonares. También consiguió proteger cavia, contra inoculación traqueal de peste virulenta, mediante la inoculación o instilación ocular de la vacuna E. V.

Girard (1937) recaló la relación que existe entre el poder vacunante de la cepa E. V. y la formación de nódulos en el bazo de los animales inoculados. También dió detalles sobre las reacciones provocadas en el hombre por inoculación de la vacuna E. V. y datos sobre la disminución de la peste en Madagascar por aplicación de la misma vacuna. Estudió en el mismo trabajo el poder protec-

tor conferido a los cavia por el empleo de otras tres cepas de *P. pestis* de virulencia atenuada: Rasoa, Peyrouton y la cepa Rainizanakolova. Y concluye que la primera no es muy buena como vacunante, la segunda es algo más virulenta que la E. V. pero inmuniza bien al cavia y rata. La cepa Rainizanakolova la emplea unida a la E. V. para la producción de suero antipestoso en caballo.

Bablet, Girard y Robie (1937) realizaron el estudio anátomo-patológico y la evolución de las granulaciones que aparecen en el bazo e hígado de los cavia inoculados intraperitonealmente con la cepa E. V.

Pirie (1938) confirmó el poder protector que confiere a roedores la vacunación con bacterias vivas por medio del empleo de la cepa E. V.

Anchezar (1938) realizó el examen bacteriológico de la cepa E. V., la marcha del proceso infectante y la permanencia de la infección experimental en cavia. Determinó la presencia de la bacteria (cepa E. V.) en ganglio, sangre, bazo, medula ósea y absceso de inoculación de los animales inoculados por vía subcutánea e intraperitoneal.

Girard (1938) presentó una reseña de los datos estadísticos como resultado de aplicación al hombre de la vacuna E. V. en Madagascar y aisló de un ganglio epitroclear infartado de un individuo vacunado un microorganismo que identificó con el E. V. También estudió la persistencia de la cepa E. V. en los cavia vacunados y aisló la bacteria de sangre, bazo, hígado y ganglio. Hizo notar que nunca la bacteria fué aislada de medula ósea; sin embargo, en las experiencias de Anchezar y en las realizadas por nosotros pudimos comprobar la presencia de la bacteria E. V. en la medula ósea de los animales vacunados.

MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

El método utilizado para el estudio del poder vacunante de la cepa de *P. pestis* (cepa E. V. de Girard y Tjiwidej de Otten) fué el siguiente. El cultivo de 36 horas de desarrollo, en agar nutritivo, a una temperatura de 20°C era suspendido en solución salina a una determinada concentración y se inoculaba cavia con 1 ml. por vía subcutánea. Los animales que sobrevivían a la vacunación eran inoculados con diferentes diluciones de *P. pestis* virulenta. Esta cepa de *P. pestis* virulenta era obtenida por pasaje al cavia y desarrollada durante 36 horas en agar nutritivo a una temperatura de 20°C. El cultivo se suspendía en caldo nutritivo hasta una

concentración de 5.000 millones de bacterias por ml. y se determinaba el número de D. M. M. por inoculación a cavias normales de diferentes diluciones en caldo nutritivo de la suspensión de *P. pestis*. También se contaba el número de bacterias contenidas en estas diluciones por siembra en placas de agar Fildes.

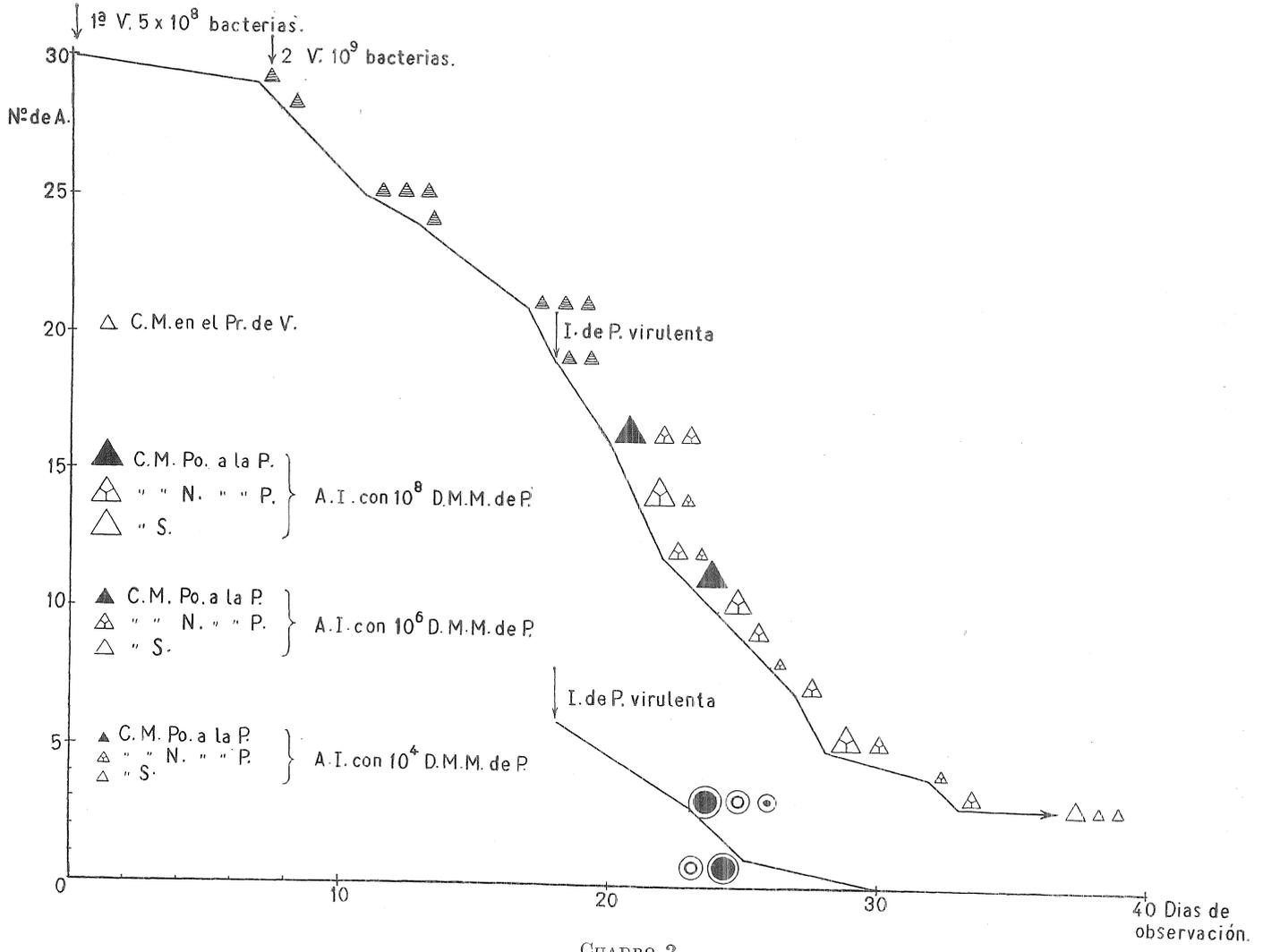
De los animales que morían después de inoculados con peste virulenta se examinaban al microscopio la impronta teñida de bazo y se sembraba sangre de corazón y medula ósea en agar nutritivo y agar Fildes. Algunas veces se sembró también material de bazo y ganglio y finalmente se inoculó a cavias, macerado de bazos y de ganglios por vía peritoneal y subcutánea; muertos estos animales se realizaba el examen microscópico de la impronta teñida de bazo y se hacía siembra en la misma forma indicada anteriormente. En algunos casos se volvía a repetir la inoculación de vísceras a cavias.

ENSAYOS REALIZADOS Y RESULTADOS OBTENIDOS. *Ensayo 1.* — Treinta cavias fueron vacunados con la cepa E. V. de Girard y otras treinta con la cepa Tjiwidej por inoculación subcutánea de una primera dosis de 500 millones de bacterias y, a los 7 días, de una segunda dosis de 1.000 millones. A los 18 días de iniciada la vacunación fueron inyectadas con diferentes diluciones de una suspensión de peste virulenta.

Los resultados obtenidos están indicados en la tabla 1 y en los cuadros 1 y 2.

TABLA 1

Número de cavias	Caracteres de los animales	Dilución suspensión <i>P. pestis</i>	D. N. M. inoculadas	Número aproximado bacterias inoculadas	Cavias muertos positivos a la peste		Cavias sobrevivientes a la infección	
					Número	Porcent.	Número	Porcent.
4	Vac. Otten .	1	10 ⁸	10 ⁹	3	75,0	0	0
8	» » .	10 ⁻²	10 ⁶	10 ⁷	2	25,0	3	37,5
8	» » .	10 ⁻⁴	10 ⁴	10 ⁵	1	12,5	2	25,0
6	» E. V. .	1	10 ⁸	10 ⁹	2	33,3	0	0
7	» » .	10 ⁻²	10 ⁶	10 ⁷	0	0	1	14,3
6	» » .	10 ⁻⁴	10 ⁴	10 ⁵	0	0	2	33,3
2	Normales ..	10 ⁻⁶	100	1060	2	100	0	0
2	» ..	10 ⁻⁷	10	96	2	100	0	0
2	» ..	10 ⁻⁸	1	8	2	100	0	0
Total 20	Vac. Otten .	—	—	—	6	30,0	5	20,0
» 19	» E. V. .	—	—	—	2	10,5	3	15,7
» 6	Normales ..	—	—	—	6	100	0	0

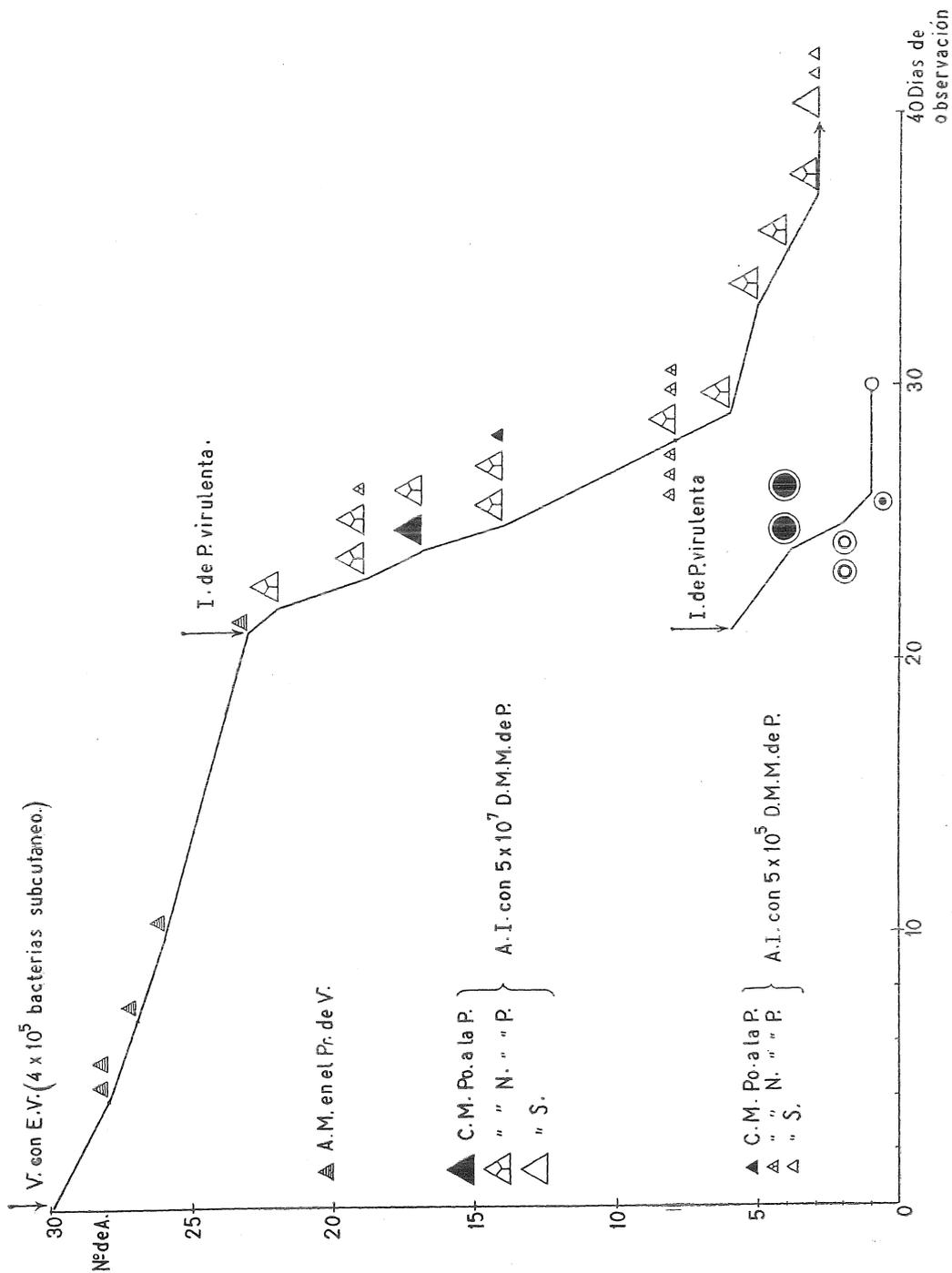


CUADRO 2

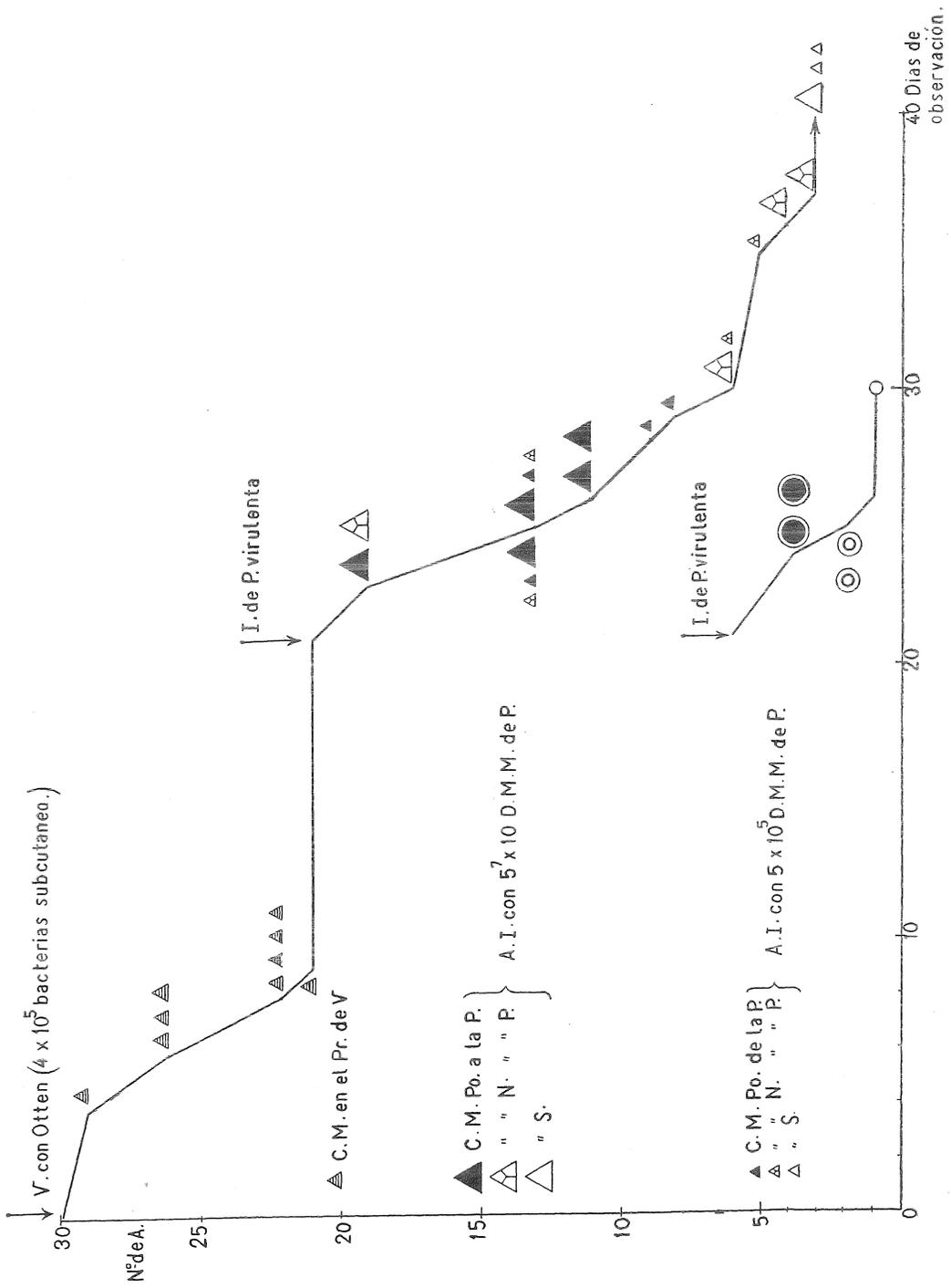
Según este experimento vemos que la cepa E. V. posee una acción inmunizante superior a la Tjiwidej; el 10 % de los animales vacunados con la cepa E. V. y el 80 % de los inmunizados con la cepa de Otten murieron de infección pestosa. Además de seis caviás vacunados con E. V. dos murieron de peste como consecuencia de ser inoculados con 10^8 D. M. M. de peste y tres de cuatro caviás vacunados con la cepa Tjiwidej murieron de infección pestosa después de inoculadas con el mismo número de D. M. M. Debemos hacer notar que los animales vacunados y muertos después de inoculados con *P. pestis* virulenta no presentaron ningún signo aparente de muerte por peste; el examen microscópico de órganos y los cultivos fueron negativos. En cambio en los animales que murieron de peste se pudo demostrar la presencia de *P. pestis* por inoculación del macerado de bazo y ganglio a caviás normales. Estos caviás normales inoculados con las vísceras de estos animales, morirían de una infección pestosa semejante a la que presentaban los caviás normales inyectados con gran dilución de cultivo de peste y que se utilizaban para la medida de virulencia de la *P. pestis*. En estos casos las improntas teñidas de bazo examinadas al microscopio presentaban abundantes bacterias de coloración bipolar y el material de sangre de corazón y de la médula ósea, sembrado en agar nutritivo y agar Fildes daba lugar al desarrollo de microorganismos que por sus caracteres culturales fueron identificados como *P. pestis*.

TABLA 2

Número de caviás	Caracteres de los animales	Dilución suspensión <i>P. pestis</i>	D. M. M. inoculadas	Número aproximado bacterias inoculadas	Caviás muertos positivos a la peste		Caviás sobrevivientes a la infección	
					Número	Percent.	Número	Percent.
13	Vac. E. V.	$0,5 \times 10^1$	5×10^7	4×10^8	1	7,7	1	7,7
10	» »	$0,5 \times 10^{-2}$	5×10^5	4×10^6	1	10,0	2	20,0
10	» Otten	$0,5 \times 10^1$	5×10^7	4×10^8	5	50,0	1	10,0
11	» »	$0,5 \times 10^{-2}$	5×10^5	4×10^6	4	36,3	2	18,1
2	Normales	10^{-6}	100	600	2	100	0	0
2	»	10^{-7}	10	130	2	100	0	0
2	»	10^{-8}	1	8	2	100	0	0
Total 23	Vac. E. V.	—	—	—	2	8,6	3	13,0
» 21	» Otten	—	—	—	9	42,8	3	14,2
» 6	Normales	—	—	—	6	100,0	0	0



CUADRO 3



CUADRO 4

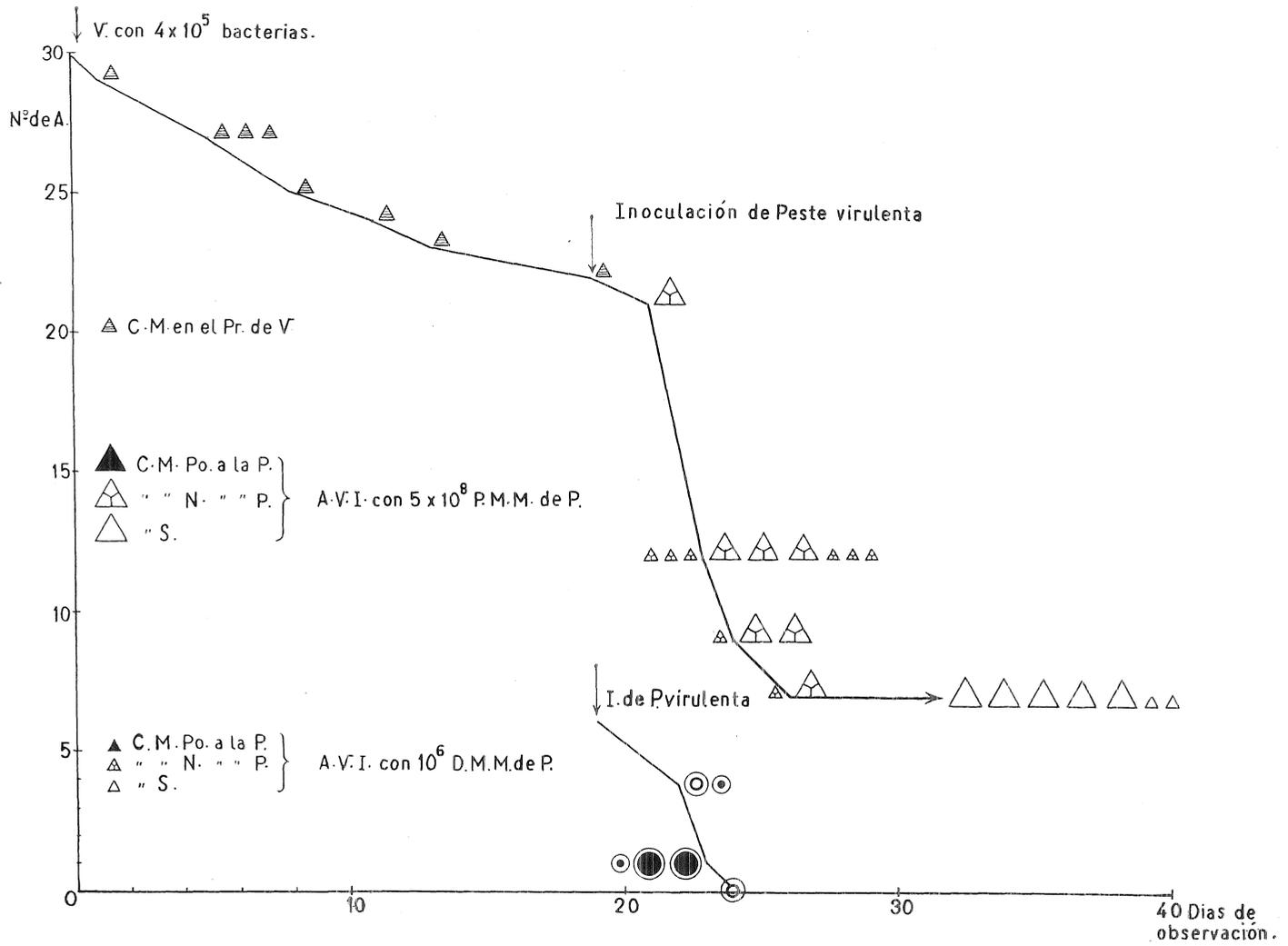
Ensayo 2.— En este experimento 30 animales fueron vacunados con la cepa E. V. y un número igual de caviás con la cepa Tjiwidej. En todos los casos fueron inoculados con 4×10^5 bacterias por vía subcutánea y después de 21 días los animales que sobrevivían a la vacunación fueron inoculados con una suspensión de *P. pestis* virulenta.

Los resultados obtenidos se ven en la tabla 2 y en los cuadros 3 y 4. Este experimento fué realizado siguiendo en sus líneas generales lo que hemos dicho en el ensayo 1. El resultado de este ensayo realizado con una sola dosis vacunante concuerda con el experimento anterior y una vez más la acción vacunante de la cepa E. V. es superior al de la cepa Tjiwidej. Entre los caviás vacunados con la primera el 8.6 % murieron de peste y el 42.8 % de los vacunados con la cepa de Otten murieron también de peste por inoculación de 5×10^5 a 5×10^7 D. M. M. de peste.

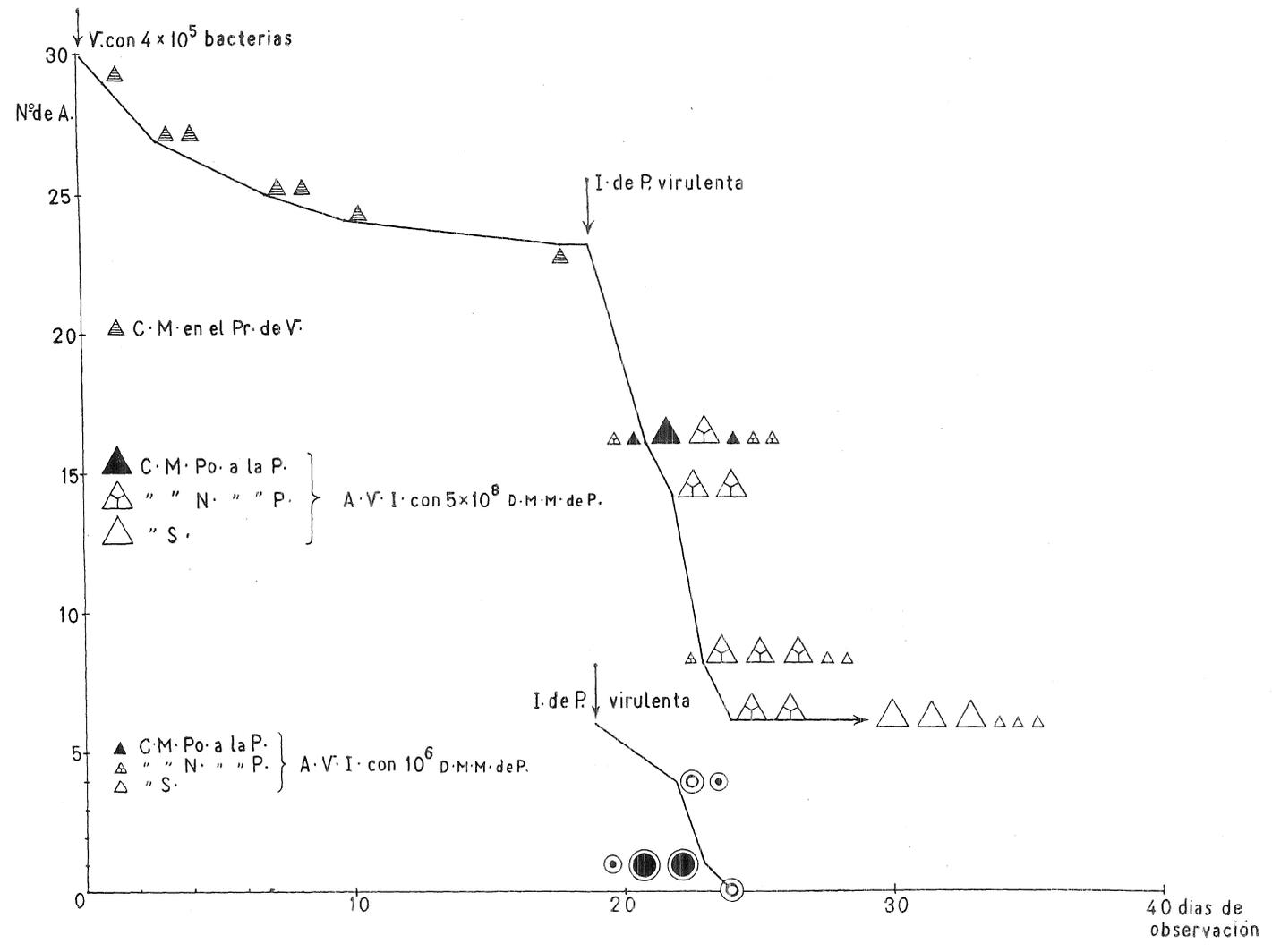
Ensayo 3.— Este experimento es una repetición del ensayo 2. Los resultados obtenidos están consignados en la tabla 3 y en los cuadros 5 y 6. Si analizamos la tabla 3 vemos que ningún cavia vacunado con E. V. murió por peste, en cambio, el 13 % de los vacunados con la cepa de Otten murieron de infección pestosa.

TABLA 3

Número de caviás	Caracteres de los animales	Dilución suspensión <i>P. pestis</i>	D. M. M. inoculadas	Número aproximado bacterias inoculadas	Caviás muertos positivos a la peste		Caviás sobrevivientes a la infección	
					Número	Porcent.	Número	Porcent.
12	Vac. E. V.	$0,5 \times 10^1$	5×10^7	3×10^8	0	0	5	41,6
10	» »	10^{-2}	10^6	6×10^6	0	0	2	20,0
11	» Otten	$0,5 \times 10^1$	5×10^8	3×10^8	1	9,0	3	27,3
12	» »	$\times 10^{-2}$	10^6	6×10^6	2	16,6	3	25,0
2	Normales	10^{-6}	100	600	2	100	0	0
2	»	10^{-7}	10	35	2	100	0	0
2	»	10^{-8}	1	3	2	100	0	0
Total 22	Vac. E. V.	—	—	—	0	0	7	31,8
» 23	» Otten	—	—	—	3	13,0	6	26,1
» 6	Normales	—	—	—	6	100,0	0	0



CUADRO 5



Ensayo 4. — En este experimento hemos comparado el poder vacunante de la cepa E. V. con la cepa Mercado que es una *P. pestis* espontáneamente atenuada en el laboratorio y que no forma granulaciones en el bazo de los animales inoculados ni tampoco nódulo en el tejido celular subcutáneo. Con este objeto 20 caviás fueron inoculados con 8.000 millones de bacteria (cepa E. V. y otros veinte con la cepa Mercado.

Los animales que sobrevivieron a la vacunación a los 14 días fueron inoculados con *P. pestis* virulenta en la forma que indica la tabla 4.

TABLA 4

Número de caviás	Caracteres de los animales	Dilución suspensión <i>P. pestis</i>	D. M. M. inoculadas	Caviás muertos positivos a la peste		Caviás sobrevivientes a la infección	
				Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
5	Vac. E. V. . . .	10 ⁻⁶	100	0	0	1	20
5	» »	10 ⁻⁷	10	0	0	2	40
5	» »	10 ⁻⁸	1	0	0	0	0
5	» Mercado	10 ⁻⁶	100	5	100	0	0
5	» »	10 ⁻⁷	10	5	100	0	0
4	» »	10 ⁻⁸	1	4	100	0	0
2	Normales	10 ⁻⁶	100	2	100	0	0
2	»	10 ⁻⁷	10	2	100	0	0
2	»	10 ⁻⁸	1	2	100	0	0
Total 15	Vac. E. V. . . .	—	—	0	0	3	—
» 14	» Mercado	—	—	14	100	0	0
» 6	Normales	—	—	6	100	0	0

En este caso el diagnóstico de peste de los animales que morían a la infección fué realizado por cultivo directo, en agar, del material extraído de médula ósea y de sangre de corazón. En esta forma pudimos comprobar que ninguno de los animales vacunados en la cepa E. V. murieron de peste; en cambio, los inyectados con la cepa Mercado murieron todos de peste y no resistieron aún a la inoculación de 1 D. M. M.

La tabla 5 muestra una comparación de los resultados obtenidos en la acción vacunante de la cepa E. V. y Otten. De ella sacamos en conclusión que por la inoculación subcutánea a caviás de *P. pestis* de virulencia atenuada murieron aproximadamente el mismo número de animales para ambas cepas de *P. pestis*. Si observamos

las cifras de los animales vacunados que mueren de peste al ser inoculados con cultivo virulento vemos que la mortalidad es menor en los vacunados con la cepa E. V. y los animales vacunados con la cepa de Otten son menos resistentes a la infección pestosa. La cepa E. V. parece conferir al cavia una mejor protección contra la infección pestosa, que la cepa Tjiwidej.

TABLA 5

Ensayo	Número de animales inoculados	Cepa vacunante	Animales muertos en el período de vacunación		Porcentaje de animales muertos por peste	Porcentaje de animales sobrevivientes
			Número	Porcentaje		
1	30	Otten	10	33,3	30.0	20.0
1	30	E. V.	11	37,0	10.5	15.7
2	30	Otten	9	30,0	42.8	14.2
2	30	E. V.	7	23,3	8.6	13.0
3	30	Otten	7	23,3	13.0	26.1
3	30	E. V.	8	26,6	0	31.8

También debemos hacer notar que nuestras experiencias concuerdan con las observaciones de Girard y Otten en el sentido de que la inoculación subcutánea de estos dos cepas de *P. pestis* de virulencia atenuada provoca la formación de un nódulo debajo de la piel en el lugar de la inoculación. En cambio la cepa Mercado es avirulenta, no provoca reacción alguna en el lugar de inoculación, no forma granulaciones en el bazo, ni posee ninguna acción inmunizante.

Otro hecho que debemos hacer notar es que la cepa E. V. inoculada al cavia por vía peritoneal provoca la formación de nódulos en el bazo del animal tal como fué descrito por Girard. En cambio la cepa de Otten no provoca reacción alguna del bazo de los animales inoculados por la misma vía. Si admitimos como lo sostiene Girard que la reacción del bazo es un signo del poder vacunante de la cepa empleada, esto estaría en relación con nuestros hallazgos por el hecho que la cepa E. V. tiene una acción vacunante superior al de la cepa aislada por Otten.

Otro hecho interesante y digno de ser tenido en cuenta es que en los animales vacunados y muertos por peste después de inoculados con peste virulenta, sólo hemos podido demostrar la existen-

cia de infección pestosa por reinoculación de bazo y ganglio de estos animales a cavia normales. En esta forma hemos tenido un cuadro de infección por peste idéntico al que dieron los cavia normales e inoculadas con cultivos de peste, es decir, abundantes bacterias de coloración bipolar en bazo y cultivos positivos a la peste en agar nutritivo y agar Fildes por siembra del material de medula ósea y de sangre de corazón.

Para el diagnóstico de peste por cultivo aconsejamos el empleo de agar Fildes porque en muchas ocasiones hemos observado que la siembra de medula ósea de un animal diera resultado negativo en agar nutritivo y positivo en agar Fildes. Este hecho lo hemos observado en la siembra de medula ósea de cavia muertos que habían sido inoculados con órganos de animales vacunados e infectados luego con peste virulenta y nunca en animales normales inoculados con cultivos de *P. pestis* virulenta.

RESUMEN

Hemos vacunado cavia con *P. pestis* de virulencia atenuada cepa (E. V. y Tjiwidej) por inoculación subcutánea de una suspensión de estas bacterias y luego hemos medido la resistencia a la infección pestosa por inoculación subcutánea de diferentes diluciones, en caldo, de peste virulenta que contenía 10^8 D. M. M. por ml.

Aproximadamente el 30 % de los animales vacunados murieron durante el período de vacunación y continuaron muriendo después de ser inoculados con peste virulenta sin estar infectados con peste. En nuestros ensayos hemos observado que del 0 al 10,5 % de los animales vacunados con E. V. y del 13 al 42,8 % de los inmunizados con la cepa Tjiwidej murieron de peste al ser inoculados con distintas diluciones de una suspensión de peste virulenta. El resto sobrevivió a la infección pestosa no obstante haber sido inoculado con diferentes cantidades de peste que variaban entre 10^4 y 10^8 de D. M. M. El porcentaje de cavia sobrevivientes a la infección pestosa varió del 13,0 al 31,8 % para la cepa E. V. y del 14,2 al 26,1 para la cepa Tjiwidej. Estos hechos no dejan lugar a dudas de que tanto la cepa E. V. como la Tjiwidej confieren al cavia una gran resistencia contra la infección pestosa pero debemos recalcar el hecho que un 30 % de los animales mueren en el período de vacunación.

Estas dos cepas provocaron en el tejido celular subcutáneo del cavia la formación de un nódulo mientras que las cepas avirulentas y no vacunantes no dan lugar a la formación de dicho nódulo. Por inoculación intraperitoneal al cavia de estas dos cepas sólo hemos observado la formación de granulaciones en el bazo cuando hemos empleado la cepa E. V. de Girard. La cepa de Otten, utilizada por nosotros no dió lugar a la formación de granulaciones en el bazo. Estos resultados concuerdan con el hecho que la cepa E. V. de Girard fué superior en su acción vacunante a la cepa Tjiwidej de Otten.

En los caviados vacunados, después de inoculados con peste virulenta sólo nos fué posible revelar la existencia de esta infección por inoculación de sus órganos a caviados normales. En todos los casos el diagnóstico de peste lo hemos hecho por el aislamiento y reconocimiento del agente casual, mediante los métodos bacteriológicos descritos por nosotros y que usamos habitualmente para el diagnóstico de los animales muertos por infección pestosa.

CONCLUSIONES

Del estudio del poder vacunante de las cepas E. V. y Tjiwidej en caviados llegamos a las siguientes conclusiones:

1. — Las cepas E. V. y Tjiwidej no son inocuas para el cavia ya que aproximadamente el 30 % de los animales mueren durante el período de vacunación.

2. — El poder protector conferido a los caviados es muy grande; estos animales son capaces de resistir la inoculación de 10^4 a 5×10^7 D. M. M. de peste.

3. — El poder protector conferido por la cepa E. V. es superior al de la cepa Tjiwidej, lo que estaría en relación con la presencia de granulaciones en el bazo que sólo la cepa E. V. produce de acuerdo con las descripciones de Girard.

4. — En los caviados vacunados e inoculados más tarde con peste virulenta sólo nos fué posible el diagnóstico de peste por la inoculación a caviados normales de la suspensión de bazo y ganglio.

5. — Las cepas vacunantes aisladas por Girard y Otten provocan la formación de un nódulo subcutáneo en los caviados mientras que las cepas avirulentas no dan lugar a la formación de nódulo y no confieren inmunidad al cavia aún contra la infección por 1 D. M. M. de peste virulenta.

BIBLIOGRAFIA

1. ALBRECHT, H. y GOHN. 1900. *Denkschr. der kaiserl. Akad. der Wissenschaften* Wien. 66 (3).
2. ANCHEZAR, B. V. 1938. « La infección experimental determinada por la cepa E. V. de Girard (*P. pestis* avirulenta). Su estudio bacteriológico y anatómo-patológico ». *Folia biologica* N° 90: 393-396. Tesis N° 4994. Univ. Nacional de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Médicas.
3. BABLET, J.; GIRARD, G. y ROBIC J. 1937. « Réactions spléniques observées chez le cobaye après inoculation intrapéritonéale d'une souche de peste de virulence affaiblie ». *C. R. Soc. Biol.* 124 (11): 1055-1057.
4. DE VOGEL, W. 1936. « La vaccination antipesteuse a Java (Indes Néerlandaises) avec un virus vivant. Quelques résultats enregistrés jusqu'au 11 Juillet ». *Offic. Int. D'Hyg. Pub.* 29 (3): 514-527.
5. GIRARD, G. 1931. *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Tananarive.* p. 23-26.
6. GIRARD, G. 1932. *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Tananarive.* p. 22-26.
7. GIRARD, G. y ROBIC, J. 1934. « Vaccination contre la peste au moyen d'une souche de bacilles de Yersin vivants de virulence atténuée ». *C. R. de l'Académie de Médecine.* 111: 939.
8. GIRARD, G. 1935. *Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Tananarive.*
9. GIRARD, G. 1935. « Vaccination de l'homme contre la peste au moyen de germes vivants (virus-vaccin E. V.). Premières résultats acquis a Madagascar ». *C. R. de l'Académie de Médecine.* 114: 16.
10. GIRARD, G. 1936. « Peste et vaccination antipesteuse ». *Les grandes endémies tropicales.* Vigot édit. p. 115.
11. GIRARD, G. y ROBIC, J. 1936. « La vaccination de l'homme contre la peste au moyen de bacilles vivants (virus vaccin E. V.). Son application a Madagascar ». *Offic. Int. d'Hyg. Pub.* 28 (6): 1078-1087.
12. GIRARD, G. 1937. « Quelques aspects de l'épidémiologie et de la prophylaxie de la peste sur les hauts plateaux de Madagascar ». *Revue d'Hyg.* 59 (8-9): 543-554.
13. GIRARD, G. 1937. « Vaccination antipesteuse par germes vivants ». *Ann. de Médecine.* 42 (3): 478-495.
14. GIRARD, G. 1937. *Archives de l'Inst. de Tananarive. Extrait du Rapport Annuel* p. 11-27.
15. GIRARD, G. 1938. *Archives de l'Inst. Pasteur de Tananarive. Extrait du Rapport Annuel.* p. 9-24.
16. KOLLE, W. y OTTO, R. 1903. « Die aktive immunisierung gegen Pest mittelst abgeschwächter Kulturen ». *Deut. Med. Wschr.* 29 (28): 493-494.
17. KOLLE, W. y OTTO, R. 1903. « Untersuchungen über die Pest-Immunität ». *Zschr. f. Hyg. u. Infek.* 45:507-544.
18. KOLLE, W.; HETSCH, H. y OTTO, R. 1904. « Weitere Untersuchungen über Pest in Besonderen über Pest-Immunität ». *Zschr. f. Hyg. u. Infek.* 48: 368-376.
19. OTTEN, L. 1934. *Conference of the Netherland's for Tropical Medicine.* Amsterdam.

20. OTTEN, L. 1935. « Vaccinations antipesteuse avec un virus vivant aux Indes Néerlandaises ». *Offic. Intern. Hyg. Pub.* 27: 1542-1545.
21. OTTEN, L. 1936. « De Pestbestrijding op Java 1911-1935 ». *Geneeskunding Tijdschrift voor Nederlandsche Indie*.
22. OTTEN, L. 1936. « Immunization against plague with live vaccine ». *Ind. Jour. Med. Res.* 24 (1): 73-101.
23. PIRIE, J. H. 1927. *Publ. S. A. Inst. Med. Res.* 3 (20): 187.
24. PIRIE, J. H. 1938. *South America Med. Journ.* p. 294.
25. PFEIFFER, R. y DIEUDONNÉ. 1899. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Vol. 16.
26. SOKKEY, S. S. y MAURICE, H. 1937. « Sur les pouvoirs protecteurs relatifs de vaccins antipesteux préparés les uns au moyen de cultures tuées par la chaleur les autres au moyen de cultures vivantes avirulentes ». *Offic. Intern. d'Hyg. Publ.* 29 (3): 505-513.
27. STRONG, R. P. 1906. *Philipp. Journ. Sci.* 1: 181.
28. STRONG, R. P. 1907. *Philipp. Journ. Sci.* 2: 157.
29. STRONG, R. P. 1908. *Arch. Schiff. u. Trop. Hyg.* 12: 417.
30. STRONG, R. P. 1908. *Journ. Med. Res.* 18: 325.
31. YERSIN, A. y CARRÉ. 1900. *Conq. Intern. de Med. Sous-section Coloniale.* Paris p. 54.