

Vacuna antidiftérica del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene

por los Doctores

ALOIS BACHMANN y J. M. DE LA BARRERA

Con la vulgarización del maravilloso descubrimiento de Behring, la mortalidad por difteria disminuyó grandemente, no así la morbilidad, que en algunas ciudades, como en Berlín, aumentó de 2.997 casos, en 1906, a 11.578, en el año 1911.

Algo por el estilo se observa en Norte América, donde la mortalidad causada por el bacilo de Loeffler, disminuyó grandemente durante el período del tratamiento antitóxico. Antes de él, la media de mortalidad diftérica se encontraba alrededor de 100 defunciones por 100.000 habitantes y desde esa cifra baja paulatinamente hasta llegar a 15 por 100.000 en el año 1920. Si bien es cierto que todo el éxito no es imputable exclusivamente a la seroterapia, pues intervienen, aunque en menor escala, otros factores coadyuvantes, no se puede negar que el tratamiento específico de la enfermedad constituye el factor más eficiente de este descenso tan marcado.

El resultado es tan notable, que en New York la mortalidad media provocada por la difteria era, antes del empleo del suero, de 35,45 por ciento y ella queda reducida en el año 1921 a 9 por ciento (1).

En cambio la morbilidad no sufre mayores variaciones. En los últimos años, se mantiene en la ciudad mencionada en una cifra media de 14.000 por año (2).

Fenómeno semejante se ha observado en todas partes del mundo civilizado.

De modo, pues, que a pesar de la generalización del empleo del suero antidiftérico y de sus innegables beneficios, el peligro de la difteria no desaparece y como muy bien lo hace notar el mismo

Behring, la alta eficacia del remedio ha sido un factor que ha retardado el estudio del problema profiláctico, pues encontrándose los médicos con un producto de alto poder terapéutico no sentían la urgencia, no palpaban la necesidad de tener a mano elementos frenadores de la morbilidad, ya que la enfermedad había perdido en gran parte su terrible fama, gracias a la sueroterapia.

Por otra parte, el suero ponía en manos de los profesionales un elemento preventivo, mediante la inmunización pasiva de las personas expuestas a esa infección. Desgraciadamente, este método tiene tantos inconvenientes que no puede generalizarse, en parte, debido a la sensibilización sérica a que se somete a los inyectados, y en parte al hecho de que el suero heterólogo y la antitoxina inyectada desaparecen en pocos días y con ello la inmunidad para la enfermedad.

Mejores resultados se obtienen con suero homólogo; así, Behring ha inmunizado chanchitos con suero antitóxico de otros animalitos de la misma especie y ha podido comprobar, en este caso particular, que la inmunidad perdura casi tanto tiempos como la provocada por una inmunidad activa; tanto que una serie de conejillos de la India, vacunados pasivamente, se comporta a los cuatro meses de efectuada esa operación, ante una infección severa, motivada por inyecciones de bacilos virulentos, de la misma manera que otra serie vacunada activamente. Lo mismo se ha observado en el hombre y de los casos mencionados por Mather, Hahn y controlados por Behring, llega este investigador a la conclusión de que la antitoxina del suero homólogo inyectado al hombre se conserva con más tenacidad en este organismo, que en el del conejillo, o de los caballos tratados de igual manera, habiéndose constatado la presencia del anticuerpo alrededor de un año, en la sangre del hombre vacunado pasivamente.

Desgraciadamente, este procedimiento no es viable y no puede ser generalizado, por la enorme dificultad de procurarse en cantidad suficiente, suero humano antitóxico. Esta serie de consideraciones y argumentos demostraron la necesidad de arbitrar un método de vacunación activa para combatir con eficacia, no ya la mortalidad por difteria vencida por la aplicación inteligente del suero, sino la morbilidad y llegar a obtener para su profilaxis, un elemento similar a la vacuna Jenner para la viruela.

Este trabajo fué emprendido por Behring, quien tuvo como precursores poco felices al ruso Dzerygowsky y a Petrusky. El mismo Behring demostró que la presencia de 1|100 de unidad antitóxica por c. c. de sangre, bastaba para preservar a la persona expuesta, de una infección grave por el bacilo de la difteria; era necesario idear, por lo tanto, un método que permitiera llegar a este resultado

mediante una vacunación activa, para que ese estado humoral favorable se mantuviera un largo lapso de tiempo.

Para llegar a este fin se presentaban tres caminos, 1° inyectar cantidades pequeñas de toxina; 2° emplear mezclas neutras o sobreneutralizadas de toxina-antitoxina; 3° utilizar mezclas ligeramente tóxicas de estos dos elementos.

El primer camino es perfectamente factible y en el hombre se han conseguido resultados positivos, como lo atestiguan las publicaciones de Opitz, Bauer y de Bieber (3). Su empleo es, sin embargo, demasiado peligroso debido a la susceptibilidad individual, que puede variar, y varía en límites bastantes amplios, como lo demuestra prácticamente la reacción de Schick con su gama de intensidades, desde la negativa hasta la intensa positiva, aún dejando de lado la parte correspondiente a las proteínas bacterianas.

El segundo camino, desde luego, es mucho menos peligroso; en este caso el problema se subdivide. Todos los investigadores están conformes en reconocer que las mezclas demasiado sobreneutralizadas son menos aptas para provocar la inmunización, (así lo establecen los trabajos de Loewenstein, Opitz, Zingher, etc.). Las mismas mezclas neutras o poco sobreneutralizadas, tienen la desventaja de provocar tardíamente la formación de la antitoxina, como muy bien lo reconoce Loewenstein, quien ve aparecer los anticuerpos en el conejo con retardo de meses, sobre la producción obtenida por la inyección de toxina pura. Lo mismo se ve en el hombre, y las observaciones de Ranult y Levy, que utilizan mezclas ampliamente compensadas, demuestran que la inmunidad activa se inicia en pocos casos al tercer mes y en la mayoría entre el cuarto y sexto mes.

Behring se decidió por el empleo de las mezclas ligeramente tóxicas, mediante las cuales se consiguió una rápida inmunización y cita un caso realmente feliz, en el cual se acumuló en la sangre, 17 días después de la inyección vacunante, 175 unidades por c. c.

Los fundamentales trabajos de Abraham Zingher han evidenciado también que tanto en el hombre como en los animales, las mezclas ligeramente tóxicas son las que provocan más rápidamente y con más intensidad la formación de antitoxina. Son éstas, pues, las mezclas preferibles para la inmunización. Los americanos dan reglas precisas para su obtención; el producto inmunizante debe contener alrededor del 85 por ciento de la toxina necesaria para el límite L +, en cambio Behring no dió detalles sobre la técnica de preparación, como tampoco los dá la fábrica Behringwerke, que hoy las entrega al público bajo la denominación TA VI y TA VII, la primera para los lactantes, la segunda para los niños de más de 18 meses y los adultos.

Estas vacunas pueden aplicarse subcutánea o intradérmicamente. Los americanos, así como Loewenstein, Kasovitz, Renault y Levy emplean la vía subcutánea; prefiriendo la intradérmica. Behring y con él Kleinerschmidt y Viereck (D. M. W., 1913 N° 41), quienes sostienen que la inyección intradérmica da lugar a la formación de mayor cantidad de antitoxina que la misma dosis de toxina inyectada debajo de la piel. En modo semejante se expresan Benno, Hahn y F. Sommer; ellos sostienen que la inyección intracutánea permite apreciar bien el grado de la reacción. Opitz preconiza también la vía intradérmica, añadiendo que si bien es más dolorosa, los resultados finales, vale decir el objeto perseguido, se consiguen más fácilmente.

Si a esto añadimos que la intensidad de la reacción depende no solamente de la cantidad de antitoxina que puede tener la sangre, sino y muy especialmente de la idiosincrasia individual, nos daremos cuenta de la bondad de la inyección intradérmica, en dosis sucesivamente menos diluídas, como aconseja Behring, y que permiten medir la susceptibilidad individual. En la práctica este método debe dar mejores resultados y menos trastornos que aquellos en los cuales no se tiene en cuenta esta circunstancia. No tenemos que recordar lo que sucede en la inmunización de los animales con el fenómeno de Kretz, para darnos cuenta de la ventaja de un procedimiento que permite evitar accidentes debidos a la hipersensibilidad y aun a posibles alteraciones espontáneas de la vacuna.

La opinión predominante sobre el modo de acción de las mezclas de toxina y antitoxina, es que ésta se disocia en el organismo. Por lo pronto, sabemos bien, que una mezcla neutra para el conejillo de Indias no constituye un producto inocuo para otros animales. Así Behring pudo observar que una mezcla neutra medida en el cobayo, provocaba por su inyección una fuerte reacción en el burro, respondiendo el organismo de éste con una fuerte producción de antitoxina. Las mezclas neutras son aún más tóxicas para el mono, animal que muere si se le inyectan mezclas sobreneutralizadas para el conejillo de Indias; datos semejantes existen en la literatura, como ser las experiencias de Roux... Todo lo cual tiende a demostrar que, o en la mezcla L o medida en el cobayo queda toxina sin neutralizar, lo que es difícil suponer dada la sensibilidad de este animalito, o bien, que en los otros animales la mezcla se disocia más fácilmente. Es lo que sostienen Busson, Braun y Loewenstein. Para ellos la inmunización se debe a la disociación de la mezcla que se efectúa progresiva y paulatinamente, actuando la toxina como antígeno de actividad mayor en este caso, que una dosis correspondiente de toxina pura. Lo mismo sostiene Opitz, y aunque él admite que la disociación se efectúa más rápidamente de lo que

opina Lowenstein, supone que la disociación se debe al menor tamaño de la molécula de la toxina o a una mayor avidez de los receptores celulares. Esta última hipótesis es la más probable, y explicaría también la diferencia de actividad de la mezcla L o medida en el conejillo de Inias, que se muestra tóxica para otros animales, como también, en ciertas ocasiones, para el hombre. El mismo Behring, sin manifestarlo expresamente, parece ser de esta opinión.

Los resultados obtenidos en el hombre mediante la vacunación activa, al decir de todos los observadores, son muy buenos. Los colaboradores de Behring, Schreiber, Zangomeister, Kleinschmidel, Kissling, constatan que el empleo de la vacuna AT da buenos resultados y Hahn en el Congreso de Wiesbaden el año 1914, presenta una serie de 30 personas en las cuales se ha efectuado cuidadosamente la medición de antitoxina, antes y después de la vacunación, con resultados realmente brillantes. Solo en tres personas no se consigue el resultado, apetecido, las demás responden a la vacunación con la formación de antitoxina, acumulando en su sangre desde 0.25 hasta 75 unidades por c.c.; esto en cuanto a la bondad del procedimiento para la producción de anticuerpos. Los resultados prácticos en la profilaxis de la difteria son igualmente buenos, así Behring, Hahn y Fritz Sommer, emplean la vacunación antidiftérica en varias aldeas alemanas, en las cuales esta enfermedad era endémica, con un resultado magnífico, pues entre los que no son tratados profilácticamente la morbilidad llega a 21 por ciento y en los que reciben la inyección preventiva, esta cifra se reduce al 0.42 por ciento.

En una última estadística publicada por Bieber, resultante de una observación realizada durante 6 años, encuentra que la cifra de la morbilidad de los no vacunados se eleva a 15 por ciento, mientras que en aquellos tratados solo alcanza a 3,3 por ciento.

La experiencia de los médicos norteamericanos es también sumamente favorable para la práctica y los resultados de la vacunación; basta citar los datos relatados por Abraham Zingher, quien ha vacunado en Nueva York a más de 50 mil niños de los colegios, con óptimos beneficios y ha podido mantener indemnes de difteria a los niños de ciertos asilos, en los cuales antes la enfermedad causaba víctimas, con la sola práctica de vacunar a todos aquellos que presentasen la reacción de Schick, positiva.

Constataciones semejantes se han efectuado en Inglaterra, cuyas autoridades médicas han adoptado el método norteamericano de vacunación.

La inmunidad provocada por las inyecciones de la mezcla de toxina-antitoxina es de larga duración; los colaboradores de Behring han medido la antitoxina de la sangre de algunos vacunados al año

de haberla efectuado y han encontrado en ella la cantidad necesaria para precaver al sujeto de infección por el bacilo de Loeffler.

Zingher ha visto que los niños vacunados conservan la reacción de Schick ,negativa hasta 4 y 5 años, de modo que la inmunidad es de larga duración y quizás se mantenga durante toda la vida.

En la experimentación animal Behring mismo ha demostrado que en el conejillo de Indias la inmunidad se conserva por lo menos 6 meses, como se deduce de las investigaciones efectuadas, las cuales demuestran que la inmunidad al cabo de ese tiempo se mantenía con toda intensidad, permitiéndolo suponer que su duración sería mucho mayor.

Las mezclas de toxina y antitoxina conservadas en la heladera mantienen durante largo tiempo sus propiedades; ellas pueden, sin embargo, sufrir alteraciones, las que, al decir de Loewenstein, se hacen siempre a expensas de la antitoxina, de modo que las mezclas se tornan más tóxicas, razón por la cual este autor prefiere emplear los productos neutros, cuyo aumento de toxicidad es menos peligroso que el de un producto que de por sí tenga un exceso de toxina. Sin embargo, los meticolosos estudios efectuados por Hiemann y Hieson han demostrado que si se emplean, para preparar las mezclas vacunantes, elementos bien madurados, vale decir lo más estabilizados posible en sus alteraciones naturales, el producto se mantiene tal cual por bastante tiempo, siempre que se le conserve en la heladera.

De todos modos, de vez en cuando, pueden presentarse alteraciones en la mezcla; pero la experiencia ha demostrado que la toxina se deteriora más a menudo que la antitoxina, disminuyendo por lo tanto la toxicidad del conjunto, con detrimento de su poder vacunante. No quiere esto decir que no suceda nunca lo contrario: este caso es posible pudiendo alterarse a veces más rápidamente la antitoxina, con el consiguiente aumento de toxicidad. Esta modificación traería aparejados graves peligros para los sujetos a quienes se vacunase con este producto, como lo demuestran algunos casos de muerte que han sido publicados en el *Journal of the Am. M. Ass.* Estos hechos obligan a efectuar mediciones periódicas del producto, para determinar su toxicidad y poder eliminar a tiempo una mezcla alterada, ya sea en menos por ineficaz, o en más por peligrosa.

En nuestro país se han ocupado de la vacunación contra la difteria por medio de mezcla de toxina y antitoxina tipo Zingher, los doctores De Elizalde y Sordelli; el primero de ellos comunicó el resultado obtenido a la Sociedad de Pediatría.

El doctor Julio Méndez encara el problema desde otro punto

de vista, tratando de provocar la inmunización mediante inyecciones de productos cuya base la constituye el bacilo de Loeffler.

Si bien en la Argentina la mortalidad por difteria, no es muy grande, provocando solamente la muerte de unas 1.500 personas por año, la práctica de la vacunación se impone también para reducir esta causa de mortalidad. Es posible que su aplicación sistemática pueda en un tiempo breve concluir con esta infección, que aún no está intensamente difundida, vale decir que nos encontramos actualmente en condiciones inmejorables para hacer una profilaxis eficiente y feliz en sus resultados. No debemos, por lo tanto, retardar la aplicación de este método profiláctico y dejar llegar el momento en que él se imponga por la difusión de la enfermedad.

Estas consideraciones nos han servido para estudiar el problema y poder entregar una vacuna eficaz desprovista de peligros y mediante la cual pudiese tantearse la susceptibilidad del vacunado, permitiendo un dosaje individual práctico y fácil que indicara en cada caso la cantidad a inyectar.

Para preparar la vacuna hemos tenido presente el producto A. T. VII, de la Behringswerke, cuyo modo de preparación es desconocido.

Nos hemos decidido por las mezclas ligeramente tóxicas, ya que la experimentación y la observación han demostrado suficientemente bien, como lo hemos expuesto anteriormente, que ellas son más eficaces. El organismo responde ante su inyección, formando antitoxina más rápidamente, que ante la introducción de mezclas neutras o ligeramente sobrecompensadas.

En el deseo de poder efectuar el dosaje individual de la vacuna hemos preferido seguir, en la técnica de la inyección, el procedimiento que aconsejara Behring y que siguen sus colaboradores y los continuadores de su obra, vale decir el de las diluciones decrecientes.

Como la técnica de preparación de la vacuna antidiftérica es cuidadosamente mantenida en secreto por Behring's Werke, nos ha sido necesario efectuar larga serie de ensayos comparativos en animales, hasta obtener mezclas de valor antigénico y de acción sobre la piel, semejantes a los de la T. A. VII de Behring.

La toxina empleada tiene las siguientes características:

L o == 0.19
L n == 0.22
L + == 0.25
D m m == 0.005

Sobre una base de 3 L o de toxina y la correspondiente anti-toxina contenida en un c. c. y que para mayor comodidad llamamos matriz, agregamos toxina hasta obtener una mezcla que, a la dosis de 0.1 c.c. contenga una dosis L n, vale decir que produzca la necrosis de la piel al ser inyectada intradérmicamente al cobayo. La mezcla así constituída tiene una actividad semejante a la T. A. VII de Behring.

Este procedimiento que permite medir la actividad de la mezcla es mucho más sensible que el norteamericano, según el cual una mezcla utilizable, debe producir con un c.c. en el cobayo, solamente una ligera induración local y con 5 c.c. parálisis después de los 10 días y muerte tardía. Límites, como se ve, demasiado amplios y poco precisos para poder servir como medición estricta.

Las mezclas así compensadas no producen nunca la muerte de los chanchitos que reciben las dosis indicadas, ni provocan parálisis tardías.

En conjunto nuestra mezcla es más tóxica que la norteamericana, pues contiene más de 85 por ciento de L +, cantidad que en este caso particular sería de 0.212 c.c., en cambio agregamos 0.22, es decir algo más de una dosis mortal para alcanzar el límite necrosis (L n). Este como es lógico es muchísimo mayor que el límite necrosis mínimo de la toxina para la piel del cobayo y cuyo valor es igual a 0.000.02 c.c., (en la mezcla alcanza a 0.009). La relación entre los dos límites y que llamaremos d, es objeto de estudios que tienden a comprobar, si como lo suponemos, se encuentra vinculado a las propiedades inmunizantes de la mezcla.

Las indicaciones de Zingher para la preparación de la vacuna establecen que se debe emplear toxina cuyo L + sea cuando más de 0.40, para que en el c.c. puedan contener por lo menos dos veces y medio ese valor, dando mucha importancia al contenido tanto mayor posible de toxina en ese volumen. Por esta razón ensayamos también una mezcla que contiene siete L o por c.c. y cuya toxina posee las siguientes características.

$$\begin{aligned}L o &= 0.07 \\L n &= 0.12 \\L + &= 0.15\end{aligned}$$

Dosis mortal mínima 0.003, límite necrosis 0.000.01.

Como lo hemos manifestado, para la inmunización en el hombre utilizamos la vía intradérmica, con diluciones de la mezcla vacunante.

Estas diluciones se preparan en el momento de emplearlas, en

la proporción de 1|40, 1|16, 1|5. Para evitar a los médicos la molestia de tener que efectuar las mediciones de la vacuna y de la solución fisiológica para obtener las diluciones a emplear, el Instituto entrega los elementos en un dispositivo que suprime los inconvenientes apuntados. La vacuna está contenida en una pequeña ampolla, soldada a otra mayor, la que contiene la cantidad necesaria de solución fisiológica para efectuar la dilución deseada. Para romper el tabique de separación de las ampollas y poder efectuar la mezcla de los dos productos, basta empujar la varilla de vidrio que atraviesa el tapón que cierra la boca de la ampolla mayor; sólo resta después de esto, agitar enérgicamente un par de veces la ampolla, para que la mezcla esté lista para su uso (Véase fig. núm. 1).

Los resultados experimentales que hemos obtenido en caballos, conejos, perros y cobayos, son muy satisfactorios. Los conseguidos en el Conejillo de Indias son particularmente interesantes, por ser este animalito de muy difícil inmunización y, sin embargo, ha respondido bien a la excitación vacunante.

CUADRO N° 1

Cobayo	Valor antitoxico de la sangre
Ch. 274	0.2 U. A. por centímetro cúbico
Ch. 280	Más de 0.1 y menos de 0.2 U. A. por c. cúbico
Ch. 441	0.2 por centímetro cúbico
Ch. 301	0.3 por centímetro cúbico
Ch. 364	0.2 por centímetro cúbico
Ch. 372	Más de 0.1 y menos de 0.2 por centímetro cúbico

Vemos pues que un animalito que no tiene antitoxina natural en la sangre, acumula antitoxina con toda facilidad, en cantidad tal que lo inmuniza con seguridad para una o más dosis mortales de toxina.

Hemos tratados de hacer aún más severa nuestra experimentación, efectuando la segunda inyección, es decir, el segundo estímulo, diez días después del primero y dejando pasar un intervalo semejante entre la sangría de prueba y la última inyección para medir la antitoxina. Los resultados, como pueden verse en el cuadro siguiente, son sumamente halagadores.

Todos los conejillos reciben intradérmicamente 0.1 de la vacuna y 10 días después la misma cantidad; después de pasado igual período de tiempo de esta segunda inyección se sangran.

CUADRO 2º

Cobayo	Primer estímulo 18. IV. 22	Valor antitóxico 72 días después	Segundo estímulo 28. VI. 22.	Valor antitóxico 15. VII.
253	0.1 al 1/10	0.01	0.1	0.2
260	id	0.01	id	0.2
258	id	0.01	id	0.2
261	id	0.01	—	—
257	id	0.01	—	—
263	id	0.05	—	—
249	id	0 05	id	0.2

Vemos pues que aún en estas severas condiciones la vacuna provoca la inmunidad en el conejillo de Indias, sin mayores molestias para el animalito, el que no acusa pérdida de peso, ni alteraciones aparentes de la salud, lo que demuestra ampliamente la eficacia de la mezcla.

La inmunidad activa provocada se mantiene durante mucho tiempo en plena actividad; hemos inoculado algunos cobayos un año después de la vacunación conjuntamente con un testigo con una dosis mortal de toxina, la que ha sido soportada con toda facilidad por los tratados profilácticamente como puede observarse en el cuadro número 3, demostrando la larga duración de la inmunidad obtenida con esta vacuna.

CUADRO Nº 3

Cobayo 856	0.008 tox. dift. subc.	Ninguna reacción — Sobrevive
„ 262	„ „ „ „	Edema moderado „
„ 260	„ „ „ „	Ninguna reacción „
„ 258	„ „ „ „	Edema lijero „
Control „ 325	„ „ „ „	Edema enorme; necrosis +7.VII

En el caballo los resultados obtenidos son también muy buenos, con una sola inyección subcutánea de 1 c.c. de la mezcla, como único estímulo, se ha logrado, en diez días, hacer acumular hasta 10 U. A. por c.c. de suero.

CUADRO N° 4

Caballo	Antitoxina natural 25 VII	29 VII	Valor antitóxico 7 VIII	Aumento
719	0 05 U. A.	1 C. Cúbico de mezcla.	Más de 0.5 Menos de 1	Más de 10
720	0.5	id	Más de 5 Menos de 10	Más de 10 Menos de 50
749	0.05	id	Más de 1 Menos de 5	Más de 20
733	0.5	id	Más de 10	Más de 20
735	Más de 0.2 Menos de 0.5	id	5	Más de 20
748	0.05	id	Más de 1 Menos de 5	Más de 20
716	Menos de 0.05	id	Más de 1 Menos de 5	Más de 20
728	0.05	id	Más de 1 Menos de 5	Entre 20 y 50
751	Más de 0.05 Menos de 0.1	id	Más de 1 Menos de 5	Entre 20 y 50
752	0.2	id	10	50
686	Menos de 0.05	id	Más de 1 Menos de 5	Entre 20 y 50
736	0.1	id	10	10
718	0.5	id	10	20
629	Más de 0.1 Menos de 0.2	id	3	15
732	0.05	id	2	10 veces

Vemos pues que es posible aumentar el poder antitóxico de la sangre de los caballos en el corto espacio de 10 días, hasta 50 veces su valor primitivo. Dejando pasar más tiempo y efectuando dos estímulos, se consigue fácilmente 10 unidades por c. c. diez días después de la segunda inyección y aumentar hasta 200 veces el valor antitóxico de la sangre.

CUADRO N° 5

Caballo	Ant. Nat. 13 x 22	1 Est. 13 x	20 Est. 25 x	Valor Antitóxico de la sangre 6 x 1	
779	+ 0.1 - 0.5	1 c. cúbico	5 c. cúbico	10 U. A.	10 veces
802	+ 0.1 - 0.5	id	id	Más de 8 Menos de 10	80 veces
811	+ 0.1 - 0.5	id	id	10 U. A.	100 veces
795	+ 0.1 - 0.5	id	id	Apenas 10	Entre 80 y 100
797	+ 0.2 - 0.5	id	id	Menos de 10 Más de 5	Entre 10 y 20
782	0.05	id	id	10	20 veces
785	- 0.05	id	id	Más de 5 Menos de 10	Entre 100 y 200
786	+ 1 - 3	id	id	Más de 10	Menos de 10 veces
809	+ 0.1 - 0.5	id	id	Más de 5 Menos de 10	Entre 10 y 20
808	+ 0.1 - 0.5	id	id	10 U. A.	Entre 50 y 100

Esta experiencia nos confirma la rapidez de la producción antitóxica del organismo del caballo ante la inyección de la mezcla vacunante; los animales fuera de un pequeño edema local, no sufrieron mayormente en su estado general.

Como lo hemos manifestado anteriormente, para la inmunización en el hombre utilizamos la vía intradérmica e iniciamos la vacunación con O. 1. c. c. de la dilución de vacuna al 1/40, es decir del tubo N° 1 de la vacuna entregada por el Instituto. Si esta inyección no provoca reacción o si sólo provoca un ligero enrojecimiento, con poca infiltración, se efectúa a las 48 horas una segunda inyección con O. 1. c. c. de dilución N° 2, es decir al 1/16, si tampoco obtenemos dentro de las 48 horas, una reacción franca, tendremos que inyectar siempre intradérmicamente O. 1 de la mezcla N° 3 (dilución al 1/5); esperamos otras 48 horas para ver la reacción y si ésta no se produce, inyectamos O. 1. c. c. de la mezcla pura.

Para terminar la vacunación debemos efectuar 10 días después de la primera, una segunda inyección con O. 1 c. c. de la misma dilución, que provoque una franca reacción de la piel del inyectado.

Así por ejemplo, si la persona que se pretende vacunar no reaccionara con las diluciones N° 1 y 2 y si con la N° 3, a los 10 días de efectuada esta última, se hace otra con O. 1. c. c. de

la misma dilución N° 3 y siempre intradérmicamente, quedando terminada la vacunación.

En la práctica sólo habrá que vacunar a las personas que den reacción de Schick positiva y volver a examinar la susceptibilidad del vacunado por intermedio de esa misma reacción al mes de la última inyección vacunante. Nosotros para darnos perfecta cuenta de la marcha de la inmunización en el hombre, hemos preferido medir exactamente el valor antitóxico de la sangre antes y después de la vacunación. En todos los casos aún en aquellos en los cuales no existía antitoxina natural, el resultado ha sido bueno, pues en todos, el organismo ha respondido prontamente a la excitación vacunante formando anticuerpos.

Sólo hemos podido seguir en su evolución completa a pocos de los vacunados, porque durante el período de un mes que se necesita para el desarrollo total de la prueba, muchos de los sujetos tratados pedían por diversos motivos el alta; razón por la cual sólo pudimos observar el resultado de la vacunación en 16 personas que reunimos en el cuadro N° 6.

CUADRO N.º 6

	Dosis Reacción	Cantidad de antitoxina antes de vac.	Después de 32 días	Después de 20 días	Aumento
Hospital Muñiz Sala Truco N° 1	1/40	0.1	1		10 veces
id N° 3	1/5	0.05	< 1		20 veces
id N° 4	1/1	0.05	< 1		20 veces
id N° 6	1/5	0.1	5		50 veces
id N° 9	1/1	0.1	1		10 veces
id N° 10	1/1	0.1	2		20 veces
id N° 11	1/1	0.1	< 1		10 veces
id N° 12	1/40	0.01	0.05		5 veces
id N° 13	1/5	0.5	5		10 veces
id N° 14	1/5	0.01	0.1		10 veces
id N° 16	1/5	0.1	1		10 veces
id. Roy	1/5	0.5	< 1		10 veces
id. I. Pa	1/5	0.05	1		20 veces
id. I. San	1/5	0.05	< 1		20 veces
Hospital Rawson					
I	1/1	0.005		0.05	10 veces
II	1/1	0.005		0.05	10 veces

Los vacunados han soportado perfectamente bien las inyecciones sin elevaciones térmicas y sin reacciones generales. Estos resultados beneficiosos se deben al método de las diluciones que permite tantear, por así decir, la susceptibilidad individual de la persona vacunada. Algunos han reaccionado ya con la dilución de 1|40; seguramente estos sujetos inyectados con la mezcla pura hubieran tenido una reacción violenta; y no por ser vacunados con una mezcla tan diluida dejó de responder su organismo a la excitación vacunante pues en los casos citados se aumentó el tenor en antitoxina de la sangre en cinco veces.

Para poder tener una opinión sobre la rapidez de la formación de antitoxina, por influencia de esta vacuna, se extraía sangre, a las personas vacunadas ya a los diez o veinte días después de la última inyección vale decir en un período de tiempo muy corto; a pesar de ello se encontró que todas habían formado anticuerpos. Así sujetos desprovistos de antitoxina natural, a los diez días habían acumulado 0.05 U. A. por c. c. de suero, vale decir 1|20 de unidad, valor suficiente para asegurar la inmunidad a la difteria.

En personas en las cuales se midió el tenor antitóxico de la sangre a los 20 días, después de efectuada la segunda inyección de vacuna, hemos conseguido de una hasta 5 U. A. por c. c.; en el 77 % de los casos más de una unidad y solamente una respondió débilmente (0.05 U. A. por c. c.), cantidad sin embargo más que suficiente para preservar contra la difteria.

El aumento menor ha sido el de 5 veces en una persona vacunada con la dilución de 1|40, el mayor de 50 veces, en otra que recibió la mezcla vacunante diluida al 1|5.

La rapidez con que se forma la antitoxina en el organismo demuestra la bondad de la mezcla ligeramente tóxica que empleamos.

CONCLUSIONES

La mezcla de toxina-antitoxina empleada en las investigaciones corresponde al tipo de mezclas ligeramente tóxicas. Por su valor antigénico y su acción sobre la piel es semejante a la preparada por Behring Werke y cuya composición es mantenida en secreto.

La mezcla contiene por centímetro cúbico 3 U. de toxina neutralizada por 3 U. A. T., más una cantidad de toxina libre tal, que dicha mezcla, a la dosis de 0.1 c. c. en inyección intracutánea, provoque necrosis límite en la piel del chanchito.

En la inmunización del hombre se utiliza la mezcla en diluciones de 1|40, 1|16, 1|5 y pura, de las cuales se inyecta sucesivamente y con intervalo de 2 días 0. 1 c. c. intracutáneo hasta llegar a la dilución que determina reacción franca en la piel. Diez días después se repite la misma dosis. La mezcla se ha ensayado en cobayos, conejos, caballos y perros y en el hombre con resultados satisfactorios. En este último la vacunación ha sido soportada perfectamente, sin reacciones generales ni elevaciones térmicas. El uso de la mezcla en diluciones crecientes evita accidentes posibles en sujetos muy susceptibles.

Las mediciones del valor antitóxico del suero del enfermo antes y después de la vacunación marcaron aumentos de 5 a 50 veces el título inicial. Todos los vacunados diez días después de la última inyección, tenían como minimum, 1|20 de U. A. T.

CONCLUSIONS

Le mélange de toxine-antitoxine employé dans les investigations, répond aux mélanges légèrement toxiques. Par sa valeur antigenic et son action sur la peau est semblable a celui préparé par Behring Werke, (composition qui est maintenue en secret).

Le mélange contient par centimetre cubique: 3. L. o de toxine neutralisée pour 3. U. A. T., plus une quantité de toxine libre, de manière, que tel mélange a une dose de 0. 1 c. c. dans des injections intracutanées provoque nécrose limite dans la peau du cobaye.

Dans l'immunization de l'homme on utilise le mélange en dilutions de 1|40, 1|16, 1|5, et pur, qu'on injecte successivement et avec intervalle de 2 jours: 0. 1 c. c. intracutané, jusque arriver a la dilution qui détermine una réaction franche dans la peau.

Dix jours après on répète la même dose. On a essayé le mélange dans des cobayes, lapins, chevaux et chiens et dans l'homme avec des résultats satisfaisants. Dans le dernier la vaccination a été supportée parfaitement, sans réaction generales et sans élévations thermiques. L'emploi du mélange dans des dilutions croissants évite des accidents possibles dans des sujets très susceptibles.

Les mesurages de la valeur antitoxique du sérum du malade, avant et après la vaccination, marque des augments de 5 a 50 fois le titre initial. Tous les vaccinés, dix jours après la dernière injection avaient comme minimum: 1|20 de U. A. T.