

Estudios sobre difteria IX

La producción de antitoxina diftérica y la vía de inmunización

Por I. GVIRTZMAN

Es un hecho bien conocido que la producción de anticuerpos por inmunización artificial está regida de manera muy principal por la vía de introducción del antígeno.

En el curso del estudio de este asunto, se exploraron diversos caminos con varios antígenos con resultados inciertos; sin embargo, los obtenidos de un grupo de experimentos han sido suficientemente interesantes para justificar su publicación, lo que se hace en esta nota breve (*).

Esta investigación trata de la diferente producción de antitoxina diftérica en el cobayo y en el conejo cuando se usan diferentes vías de introducción del antígeno, cuando se le emplea como primero y como segundo estímulo. Se ha utilizado el toxoide purificado que se emplea en la vacunación antidiftérica y el mismo toxoide activado por la adición de $Al(OH)_3$ que constituye la vacuna antidiftérica. La cantidad inyectada, la vía y los resultados están expuestos en cada experimento. Las técnicas y métodos empleados son los corrientes usados en todo laboratorio de modo que se omite su mención y descripción. En cuanto al antígeno es el utilizado en el Instituto Bacteriológico y su preparación es la descrita por Sordelli y colaboradores en esta misma revista.

(*) Este trabajo, realizado en los laboratorios de la Dirección del Instituto Bacteriológico (Sección Terapia Experimental), debía constituir la base de la tesis doctoral de la Srta. I. Gvirtzman, que su muerte prematura le impidió terminar. La simple exposición de los hechos constituye la mejor prueba de su capacidad de investigador. Su publicación es un homenaje sencillo de respeto y afecto de sus compañeros de trabajo. — A. SORDELLI.

Entregado para publicarse en diciembre de 1942.

1^{er} EXPERIMENTO. — De manera semejante a la utilizada por muchos autores, especialmente por colegas del Instituto de cuya experiencia se tuvo conocimiento, se realizaron los ensayos que se exponen más abajo inyectando el antígeno en uno o varios lugares.

Antígenos: Toxoide nativo, toxoide purificado y toxoide purificado con Al (OH)₃.

Dosis: 5 Lf, 15 Lf, 30 Lf (Vol. 0,5 cm³).

Estímulos: 1 solo.

Animales: Cobayos de 300 grs (10 por cada serie).

Vía: Subcutánea: a) en 1 lugar (0,5 cm³); b) en 5 lugares (0,1 cm³ en cada lugar).

Sangría de prueba: A los 30 días de la inyección.

RESULTADOS

Toxoide	5 Lf		15 Lf		30 Lf	
	1 lugar	5 lugares	1 lugar	5 lugares	1 lugar	5 lugares
<i>Nativo</i>	1/5	1/50	1/20	1/20	1/10	1/100
<i>Purificado</i>	1/20	1/20	1/20	1/10	1/5	1/10
<i>Purificado + Al (OH)₃</i> ..	1	1	2	4	3	4

Estos resultados revelan que el poder antigénico del primer estímulo no aumenta de manera muy evidente con la dosis, aunque se nota una tendencia a crecer, sobre todo con los antígenos purificados. El toxoide precipitado por ácido es por lo menos tan buen antígeno como el toxoide nativo del cual proviene; la adición de alúmina aumenta, como es sabido, la actividad antigénica y ésta crece con la dosis utilizada. Parécería que la distribución de este antígeno en varios lugares le da una actividad antigénica apenas mayor.

La participación de un mayor número de zonas del tejido celular subcutáneo en la producción de antitoxina, que fué el objeto principal de este experimento, no influye de manera evidente en ese fenómeno; se confirma así la experiencia recogida por otros autores en el Instituto Bacteriológico.

2º EXPERIMENTO. — Este y varios de los siguientes han tenido por principal o único objeto averiguar la influencia de la vía de introducción del primero y del segundo estímulo sobre la producción de antitoxina que es la finalidad principal de este trabajo.

Antígenos: Toxoide purificado, toxoide purificado + Al (OH)₃.

Dosis: 10 Lf, en 0,1 cm³.

Estímulo: 1 solo.

Vías: Intradérmica, muscular, peritoneal, pleural, cerebral, venosa y subcutánea.

Sangría de prueba: A los 30 días de la inyección.

Número de animales por cada grupo: 10 cobayos de 300 grs.

VÍAS

Antígeno	I. dérmica	I. muscular	I. peritoneal	I. pleural	I. cerebral	I. venosa	Subcutánea
Toxoide purificado	1/300	1/50	1/20	1/10	1/10	1/100	1/20
Toxoide purificado Al (OH) ₃ . .	2	2	2	2	2	1/100	3

El hecho saliente que pone de manifiesto este experimento es la pequeña producción de antitoxina por vía venosa con un solo estímulo, hecho por demás conocido. Podría decirse lo mismo de la vía intradérmica, para el antígeno purificado, pero por tratarse de un solo experimento nada debe afirmarse, pues la literatura conocida no sirve de antecedente.

3º EXPERIMENTO. —

Antígeno: Toxoide purificado.

Dosis: primer estímulo 10 Lf y segundo estímulo 10 Lf en 0,1 cm³.

Estímulo: 1º estímulo y a los 30 días 2º estímulo.

Vías: I. Dérmica, I. muscular, I. peritoneal, I. pleural, I. cerebral, I. venosa, Subcutánea.

Sangrías de pruebas: A los 30 días del primer estímulo y a los 12 días del segundo.

Números de animales de cada grupo: 10 cobayos de 300 grs.

Vías (*)

	I. dérmica	I. muscular	I. peritoneal	I. pleural	I. cerebral	I. venosa	Subcutánea
(1) Valor después del primer estímulo.	1/10	1/50	1/4	1/5	1/5	1/300	1/50
(2) Valor después del segundo estímulo.	7	7	80	40	70	7	15
Relación (2)/(1)	70	350	320	200	350	2.100	750

Es evidente que el grupo de animales inyectados por las vías serosas dan un mayor valor tanto en el primero como en el segundo estímulo.

Si se consideran los valores de 40, 70 y 80 unidades obtenidos por sólo dos inyecciones en el cobayo, no se puede menos de sentir sorpresa por lo elevado de los valores. El incremento de la antitoxina del primero al segundo estímulo es relativamente uniforme para todas las vías, con excepción de la intradérmica que es más baja, y para la venosa que es más alta.

4º EXPERIMENTO. — Con este experimento se ha tratado de conocer la influencia de sólo dos vías de inyección subcutánea y peritoneal utilizados como primero y como segundo estímulo. Asimismo, se ha investigado la influencia de la inyección del segundo estímulo por la vía subcutánea en el mismo y en diferente lugar de donde fué aplicado el primer estímulo.

Antígeno: Toxoide purificado.

Dosis: Primer estímulo 10 Lf, y segundo estímulo 10 Lf en 0,1 cm³.

Estímulo: Primer estímulo y a los 30 días segundo estímulo.

Vías: Subcutánea y peritoneal.

(*) La misma vía es usada en los dos estímulos en cada grupo es decir, los inyectados por vía venosa y re-inyectados por vía venosa, los de peritoneo en peritoneo, etc.

Sangría de prueba: A los 30 días del primer estímulo y a los 12 del segundo.

Número de animales de cada grupo: 10 cobayos de 300 grs.

Primer estímulo	Valor después del primer estímulo	Segundo estímulo	Valor después del segundo estímulo	Incremento
Subcutáneo	1/300	Sub, mismo lugar del primer estímulo	5	1.500
Subcutáneo	1/300	Sub. en distinto lugar del primer estímulo.	5	1.500
Subcutáneo	1/300	Intraperitoneal	7	2.100
Intraperitoneal .	1/5	Subcutáneo	80	400
Intraperitoneal .	1/10	Intraperitoneal	50	500

El uso de dos vías distintas para la aplicación del primero y del segundo estímulo da resultados muy diferentes según el orden en que se emplean, como lo prueba la inyección subcutánea seguida de una peritoneal que da el valor de 7 unidades en el suero, mientras la vía peritoneal seguida de la subcutánea da 80 unidades. Este hecho importante fué investigado de manera más completa en el experimento siguiente:

5° EXPERIMENTO. — Se inoculan 6 lotes de 60 cobayos por distintas vías y luego a cada uno de esos lotes se lo divide en 6 grupos de 10 cobayos que son inoculados cada uno por una vía distinta, constituyéndose así 36 grupos finales de 10 cobayos cada uno.

Antígeno: Toxoide purificado.

Dosis: Primer estímulo 10 Lf; segundo estímulo 10 Lf.

Estímulo: Primer estímulo y 28 días después segundo estímulo.

Vías: Peritoneal, muscular, subcutánea, pleural, cerebral y venosa.

Sangrías de pruebas: A los 28 días del primer estímulo y a los 12 días del segundo.

Numero de cobayos: De cada grupo, 10; de cada grupo grande, 60.

Resultados del experimento agrupando los animales por el primer estímulo sin tener en cuenta el segundo:

Vía primer estímulo	Vía segundo estímulo	Resultado de la segunda sangría
Peritoneal	peritoneal, muscular,	9,20
Muscular	subcutánea, pleural,	6,00
Subcutánea	cerebral, venosa.	1,60
Pleural		10,00
Cerebral		6,20
Venosa		0,16

Resultados que se obtienen agrupando los animales por el segundo estímulo sin tener en cuenta el primer estímulo.

Primer estímulo	Segundo estímulo	Resultado de la segunda sangría
peritoneal, muscular, subcutánea, pleural, cerebral, venosa.	Peritoneal	9,5
	Muscular	5,5
	Subcutánea	3,9
	Pleural	4,5
	Cerebral	3,7
	Venosa	6,0

Aparece de manera clara en estos resultados que la influencia del segundo estímulo sobre el valor final no es muy evidente; en cambio resulta de la mayor importancia el lugar de aplicación del primer estímulo. La vía venosa y la vía subcutánea son las menos activas; corresponde la mayor actividad a las vías pleural y peritoneal y es algo menor para la vía cerebral y muscular. Los valores antitóxicos son menores que los obtenidos en los experimentos anteriores, pero la relación de los valores finales es aproximadamente la misma.

EXPERIMENTO EN CONEJOS. — Con el objeto de averiguar si el fenómeno observado en el cobayo podía ser reproducido con otros animales, se utilizó el conejo, obteniéndose resultados contradictorios y según los cuales el uso de la vía peritoneal o de la vía subcutánea, como primero o segundo estímulo, no da los mismos re-

sultados finales, observados en el cobayo. Probablemente si el fenómeno existe requiere condiciones muy particulares para ponerse de manifiesto y sólo se puede decir por el momento que por la misma técnica y los mismos recursos utilizados anteriormente con el cobayo, el conejo tiene un comportamiento diferente.

CONCLUSIONES

1° — La adición de $\text{Al}(\text{OH})_3$ al toxoide diftérico lo transforma en un mejor antígeno, sea cual fuere la vía de inyección, salvo la venosa en cuyo caso no se manifiesta esta superioridad.

2° — La actividad antigénica de dosis diferentes de toxoide purificado o nativo no está proporcionado a la cantidad. Tampoco influye que se inyecte toda la dosis en un lugar o varios lugares del tejido celular subcutáneo. El toxoide con $\text{Al}(\text{OH})_3$ parece ser más activo con mayor cantidad y tener una mayor actividad cuando se lo distribuye en varios lugares.

3° — Cuando se aplican dos estímulos los resultados finales están condicionados por la vía empleada, la mayor actividad corresponde a las vías serosas (peritoneal, pleural, cerebral (meninges)).

4° — Con dos estímulos aplicados por dos vías diferentes influye de manera importante la vía utilizada para el primer estímulo. Prácticamente no influye la vía usada en el segundo estímulo.