

DIRECTOR

Prof. JORGE E. CAVELIER

COMITE DE REDACCIONProfesor LUIS PATIÑO CAMARGO
Prof. agregado HERNANDO ANZOLA CUBIDES
Prof. agregado FRANCISCO GNECCO MOZO**VACUNACION CONTRA LA FIEBRE AMARILLA
EN COLOMBIA***

*Hugh H. Smith, Manuel Roca García, Augusto Gast Galvis,
Héctor Calderón Cuervo.*

El primer método efectivo de vacunación contra la fiebre amarilla que pudo ser adaptado para uso humano se basó en el trabajo de Theiler (1), quien en 1930 anunció una marcada variación en el virus de la fiebre amarilla producida por pases consecutivos en cerebro de ratón blanco. Se halló que este virus de cerebro de ratón, aunque poseía un neurotropismo aumentado, había perdido mucho viscerotropismo, lo cual sugirió su empleo como agente antigénico en la vacunación contra la fiebre amarilla. En 1931 Sawyer, Kitchen y Lloyd (2) anunciaron un método de vacunación en el que se usaba virus de cerebro de ratón simultáneamente con una dosis adecuada de suero humano inmune para contrarrestar la actividad patógena de aquél. Este método de vacunación cumplió con su finalidad inmediata que era terminar con la gran serie de infección y muerte entre los investigadores de la fiebre amarilla (3), pero no era práctico para uso en grande escala en el control de la fiebre amarilla, a causa de la dificultad de obtener y administrar la cantidad de suero inmune requerida.

Entre 1931 y 1935 fueron vacunadas 38 personas por este método en los Laboratorios de la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller en Nueva York (4). Informes sobre

(*) Los estudios y observaciones en que se basa este trabajo se efectuaron bajo los auspicios de la Sección de Estudios Especiales que sostienen cooperativamente el Ministerio de Trabajo, Higiene y Previsión Social de Colombia y la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller, y fué presentado originalmente ante el VIII Congreso Científico Panamericano que se reunió en Washington, D. C., en mayo de 1940.



resultados obtenidos en Europa, con el mismo método, con o sin modificaciones, han sido publicadas por Findlay (5), Pettit y Stefanopoulo (6), y en Nigeria (4) y en el Brasil (7) los respectivos Servicios de Fiebre Amarilla también realizaron vacunaciones por este método. Igualmente, en Colombia se practicaron así 20 vacunaciones de noviembre de 1934 a julio de 1935, entre el personal dedicado a las investigaciones de fiebre amarilla en el laboratorio o en el campo. Los resultados de estas vacunaciones fueron en general satisfactorios y similares a los obtenidos en Nueva York. En Colombia no se encontró ninguna afección del sistema nervioso Producida por el virus neurótrofo usado.

Buscando un método de reducir el viscerotropismo sin aumentar el neurotropismo del virus de la fiebre amarilla, se encontró (8) que el prolongado cultivo *in vitro* en tejido embrionario disminuía notablemente el viscerotropismo de una cepa muy virulenta, sin aumentar a la vez su neurotropismo. Esta cepa de virus modificada por cultivos y conocida como la 17E vino, desarrollada en tejido embrionario de ratón, a reemplazar el virus de cerebro de ratón en el método de vacunación empleado hasta entonces (9, 10). La reducción del viscerotropismo en este virus cultivado no se consideró suficiente, sin embargo, para permitir su uso sin la protección de suero inmune. De noviembre de 1935 a septiembre de 1936 se hicieron 12 vacunaciones con este virus y suero inmune humano entre el personal dedicado a los trabajos de fiebre amarilla en Colombia. Los resultados obtenidos no se diferencian en nada de los publicados por Lloyd (9).

Entre otros métodos de cultivo del virus de la fiebre amarilla *in vitro*, iniciados por Lloyd, Theiler y Ricci (8), figuraba el uso de tejido de embrión de pollo desprovisto del sistema nervioso central. Se ha visto que el virus (17D), obtenido mediante cultivo prolongado en ese medio, pierde grandemente el neurotropismo y el viscerotropismo, al mismo tiempo que conserva sus propiedades antigénicas. La inoculación subcutánea de este virus a un mono susceptible, el *Macacus rhesus*, rara vez produce reacciones febriles y la cantidad de virus demostrable en la sangre del mono infectado es generalmente mínima. Además, la inoculación intracerebral de este virus muy rara vez le produce a dicho animal encefalitis severa pero sí la produce al ratón blanco, en forma que, aunque la mortalidad no disminuye, el período de incubación se prolonga. El mono rhesus inoculado con este virus (17D) por cualquier vía queda completamente inmunizado contra cualquier inoculación posterior, por virulenta que sea la cepa empleada.

En noviembre de 1936, Theiler y Smith (11), después de cuidadosos y largos estudios en animales de laboratorio, comenzaron la inmunización humana haciendo una sola inoculación subcutá-

nea de esta cepa modificada de virus 17D, sin suero inmune. Tanto la reacción local a la vacunación, como la reacción general, fueron tan benignas que en ningún caso interrumpieron las ocupaciones de las personas vacunadas. En la sangre de las ocho personas vacunadas se hallaron después anticuerpos protectores. Un poco de la vacuna 17D preparada en Nueva York para uso humano, fué enviado al Brasil en enero de 1937, dando principio así a un concienzudo estudio de su aplicación al hombre. No obstante que las observaciones preliminares hechas en Nueva York habían demostrado que el virus 17D únicamente producía ligera reacción (11), en el Brasil la vacunación se limitó al principio a grupos pequeños de voluntarios a quienes se podía observar fácilmente. Tres grupos, 24 hombres en total, fueron vacunados subcutáneamente en febrero y marzo de 1937 con vacuna rehidratada 17D en cantidades determinadas, medidas en dosis mínimas letales para el ratón. Los resultados de los cuidadosos estudios llevados a cabo con dichos individuos pueden resumirse como sigue (12) :

En menos de la mitad apareció virus en el torrente sanguíneo, y eso en cantidades sumamente pequeñas. Durante los primeros 28 días después de la vacunación se encontraron mediante la prueba de protección, anticuerpos protectores en el suero de todas las personas vacunadas. Sin embargo, de 24 vacunados sangrados a los 7 días ninguno resultó inmune todavía, y de 23 sangrados a los 14 días 9 no tenían inmunidad aún.

Se encontró gran variación individual en la producción de anticuerpos, pero en general el título de los sueros de las personas vacunadas era bajo en comparación con el que alcanzan los monos rhesus y los que han sufrido la fiebre amarilla. Más o menos la tercera parte de los sometidos al estudio se quejaron de haber padecido malestar, más que todo de dolor de cabeza acompañado por lo regular de dolores en el cuerpo semejantes a los de la gripa. La temperatura más alta que se registró fué de 37.7° C. Estos síntomas aparecían usualmente entre el quinto y el octavo día después de la vacunación. Ningún vacunado experimentó una reacción suficientemente fuerte para obligarlo a interrumpir sus labores diarias. No ocurrió ninguna reacción local en el sitio de la inoculación y únicamente en muy pocos casos se notó un ligero eritema de la piel. Tampoco se notó ninguna reacción alérgica a las proteínas del embrión de pollo.

A medida que fueron conocidos estos primeros informes sobre el uso de la vacuna 17D, fueron elaborándose planes para iniciar la vacunación en Colombia, donde en vista de los frecuentes brotes de fiebre amarilla selvática era de todo punto deseable proteger los conglomerados más expuestos al peligro.

Este informe presenta la experiencia alcanzada en Colombia

en la vacunación contra la fiebre amarilla con virus 17D, desde junio de 1937 hasta fines de marzo de 1940, período durante el cual fueron vacunados 175.496 personas.

Métodos y material.

Cepa del virus usado como vacuna.—El virus 17D provino de la cepa Asibi, cuya historia completa ya ha sido publicada (8). Tras de muchos pases en el mono rhesus fué establecido en un medio compuesto de tejido embrionario de ratón y 10% de suero normal de mono en solución de Tyrode. Después de 18 pases en este medio, se inició un subcultivo en otro medio que contenía embrión integral de pollo, en el cual se hicieron 58 pases. Se inició entonces un nuevo subcultivo en un medio también con embrión de pollo, pero desprovisto del cerebro y de la columna espinal. Este virus se ha mantenido continuamente por más de 200 subcultivos en este medio que contiene una mínima cantidad de tejido nervioso.

Preparación de la vacuna.—De junio de 1937 hasta mayo de 1939 las vacunaciones se hicieron en Colombia con vacuna preparada en Nueva York en los Laboratorios de la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller, con excepción de unas pocas hechas con tres lotes de vacuna suministrados por el Laboratorio del Servicio de Fiebre Amarilla del Brasil. Las primeras tentativas para preparar vacuna 17D en Colombia fueron hechas por el doctor Bernardo Samper en el Instituto Nacional de Higiene Samper-Martínez en 1938, usando virus semilla de Nueva York. Tan pronto como fué terminado el edificio para laboratorio construido en Bogotá por el Gobierno Nacional en colaboración con la Fundación Rockefeller se le dotó de los aparatos necesarios para la preparación de vacuna en gran escala. Todas las vacunaciones hechas en el país desde mayo de 1939 han sido con vacuna preparada en este laboratorio.

Como el título del virus producido por multiplicación en cultivos de tejido es bajo, la vacuna para uso humano se prepara con embriones de pollo vivos inoculados con virus de cultivo, método que permite obtener un título bastante alto a causa de la multiplicación del virus en los embriones. La inoculación de los embriones se hace con líquido sobrenadante de cultivos frescos de virus o también con el mismo líquido conservado en estado seco. En la preparación de vacuna se ha usado solamente virus cultivado entre los pases 204 y 284. Para la inoculación se escogen huevos con embriones vivos, generalmente de 7 días de edad; el número de huevos inoculados depende de la cantidad de vacuna que se desea obtener.

Después de limpiar la cáscara del huevo con alcohol al 95%,

se hace un pequeño orificio con una aguja especial a una distancia más o menos de $\frac{1}{2}$ cm. del embrión, haciendo esta operación en cuarto oscuro y con lámpara eléctrica, que permite ver claramente la posición del embrión. Con una jeringa de tuberculina con aguja de calibre 25 por $\frac{1}{2}$ pulgada de largo se inoculan en la cavidad alantoidea 0.06 c.c. de material de cultivo fresco o rehidratando con agua destilada el material seco, y después se tapa el orificio con parafina. Los huevos inoculados se ponen nuevamente a incubar a 37° C. por cuatro días, al cabo de los cuales están listos para la preparación de la vacuna.

Para preparar la vacuna se extraen del huevo los embriones vivos y se mezclan, luego se pesan y trituran en un molinillo de piedras con ayuda de alundum. Con el triturado anterior se hace una suspensión al 10% en suero normal humano, por lo regular sin diluir, aunque en los primeros lotes de vacuna preparados se usó suero normal humano diluido al 50% en agua destilada. El material se centrifuga durante 30 minutos a 3,000 r.p.m. y luego se filtra a través de discos Seitz EK y a 10 libras de presión. Sin embargo en esta filtración se pierde mucho virus, razón por la cual en los últimos meses se han venido preparando lotes de vacuna sin filtración que, gracias a una técnica muy cuidadosa, han resultado casi todos sin contaminación bacteriana.

La vacuna se envasa en ampolletas con 3.0 c.c. cada una y en tubos con 0.5 c.c. cada uno. Luego es congelada en una mezcla de alcohol y nieve carbónica y desecada al vacío en campanas neumáticas tipo Hempel, en las cuales se coloca ácido sulfúrico concentrado para la absorción del vapor de agua. En cada lote de vacuna se prueban la esterilidad bacteriológica, la virulencia y la cantidad de virus. El neurotropismo y el aumento del viscerotropismo se prueban inoculando intracerebralmente un mono rhesus con 1.0 c.c. de vacuna. La cantidad de virus se determina antes de la desecación y luego a cortos intervalos, inoculando por vía intracerebral diferentes diluciones de la vacuna a sendos grupos de seis ratones blancos. De la mortalidad por encefalitis que resulta se calcula la dilución teórica capaz de producir una mortalidad del 50% entre los ratones inoculados (13). La vacuna se almacena a una temperatura de 4° C. y se envía al campo empacada en termos con hielo.

Técnica de la Vacunación.—La vacunación consiste en una inyección subcutánea de vacuna rehidratada, y diluida usualmente en suero fisiológico en proporción de 1 a 10. Dicha inoculación se hace en uno u otro brazo a la altura de la inserción del músculo deltoides. La cantidad usual que se inyecta es de 0.5 c.c.; no obstante en el laboratorio se usan algunas veces dosis de 1.0 c.c. El virus se rehidrata inmediatamente antes de usarse, y cuando es

posible la cantidad sobrante se inocular a ratones por vía intracerebral para comprobar la vitalidad de la vacuna usada.

Prueba de inmunidad.—Para probar el contenido de anticuerpos del suero de una persona, antes o después de la vacunación, se usa la prueba de protección intraperitoneal en ratones. Esta prueba sirve no solamente para demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos protectores en un suero dado, sino también para determinar la cantidad de anticuerpos, lo que se hace probando una serie de diluciones en sendos grupos de ratones. Durante la primera parte del período que abarca este estudio, hasta marzo de 1939, se usó en la prueba de protección una suspensión al 15% de cerebro de ratón infectado. La práctica demostró que esta concentración de virus daba frecuentemente resultados inconclusivos en el caso de sueros que indudablemente contenían anticuerpos, por lo cual se resolvió volver a usar suspensión cerebral al 10%, tal como originalmente lo recomendaron Sawyer y Lloyd (14).

Desarrollo del Servicio de Vacunación.

Los casos de fiebre amarilla selvática que venían presentándose en el país cada año desde 1933, hicieron imperiosa, una vez demostrada la seguridad y eficacia de la vacuna 17D en Nueva York y en el Brasil, la necesidad de proteger los grupos especialmente expuestos. Por consiguiente, en junio de 1937 se comenzó con vacuna enviada de Nueva York la vacunación del personal de algunas Unidades Sanitarias Rurales, de las cuadrillas de exploración de las compañías petroleras, de la Policía Nacional, de las compañías de aviación, de la aviación militar, de algunos trabajadores de carreteras y de los empleados de las Minas de Muzo, trabajo al que se dedicó el personal médico del laboratorio y del servicio de investigación. Cuando a principios de octubre de 1937 se presentó un brote de fiebre amarilla en la zona rural adyacente a Landázuri (Santander), ya habían sido vacunadas 633 personas del tipo mencionado. Inmediatamente se envió vacuna a Landázuri y en el curso de tres semanas fueron vacunados allá aproximadamente 1,000 habitantes, siendo ésta la primera vez que se usó la vacuna 17D para controlar un brote de fiebre amarilla selvática. En febrero de 1938 se comenzó una campaña sistemática encaminada a inmunizar el porcentaje más alto posible de la población de Muzo, lugar famoso en los anales de la historia médica por haber reaparecido frecuentemente allí la fiebre amarilla. Entre los meses de febrero y noviembre de 1938, fueron vacunadas en Muzo 3,341 personas, o sea aproximadamente el 61% de la población. Desde entonces, ningún caso de fiebre amarilla ha sido conocido en Muzo, a pesar de haber sido examinadas en el laboratorio 35 muestras de

hígado de personas muertas allí por enfermedades febriles agudas.

En mayo de 1938 ocurrió un brote agudo de fiebre amarilla en las áreas rurales de Caparrapí (Cundinamarca) e inmediatamente se enviaron médicos con vacuna a combatir la epidemia. En el curso de varias semanas fueron vacunadas 2,670 personas y el brote desapareció rápidamente.

En noviembre de 1938 se formó la primera comisión permanente que había de iniciar un servicio de vacunación continuo. En el curso de pocos meses se alistaron y enviaron al campo otras cuatro comisiones. Estas comisiones están formadas por un médico y un ayudante, combinación que, según se ha observado, es la mejor para la vacunación en el campo. Las dificultades de transporte y las condiciones de vida primitivas existentes en muchas de las regiones en donde han ocurrido casos de fiebre amarilla hicieron necesario crear un equipo especial para las comisiones. El principal problema, que era el de conservar la vacuna en hielo, se solucionó empleando piezas refrigeradoras del tipo "Icy-ball" *, para las cuales se diseñó una caja propia para el transporte a lomo de mula. Esta solución ha resultado del todo satisfactoria y ha hecho posible llevar la vacuna a toda región del país adonde pueden llegar bestias de carga. La técnica de vacunación en el campo es exactamente igual a la adoptada en el Brasil en 1937 (12).

A medida que se fué disponiendo de personal competente para la vacunación fué desarrollándose y poniéndose en práctica el siguiente programa general:

1. Vacunar intensamente en las zonas rurales donde se descubran casos de fiebre amarilla, con el fin de limitar, en cuanto sea posible, la propagación.

2. Vacunar el mayor porcentaje posible de personas en todas las zonas donde haya habido casos en los últimos seis años. En Colombia la fiebre amarilla ha tendido a reaparecer frecuentemente en algunas zonas que se cree son focos endémicos.

3. Vacunar toda la población a lo largo del Río Magdalena desde Honda hasta Barranquilla y a lo largo de las carreteras, ferrocarriles y cables que conducen a ambas riberas del Río Magdalena al norte de Honda. Esta medida fué adoptada para disminuir las posibilidades de que el virus lograra llegar a las ciudades del Caribe.

4. Finalmente, procurar inmunizar todos los grupos de trabajadores o viajeros que salgan para las zonas infectadas. En estos grupos quedan incluidos el personal de la aviación civil y militar; las tripulaciones de los buques fluviales; los trabajadores de carreteras; científicos y exploradores.

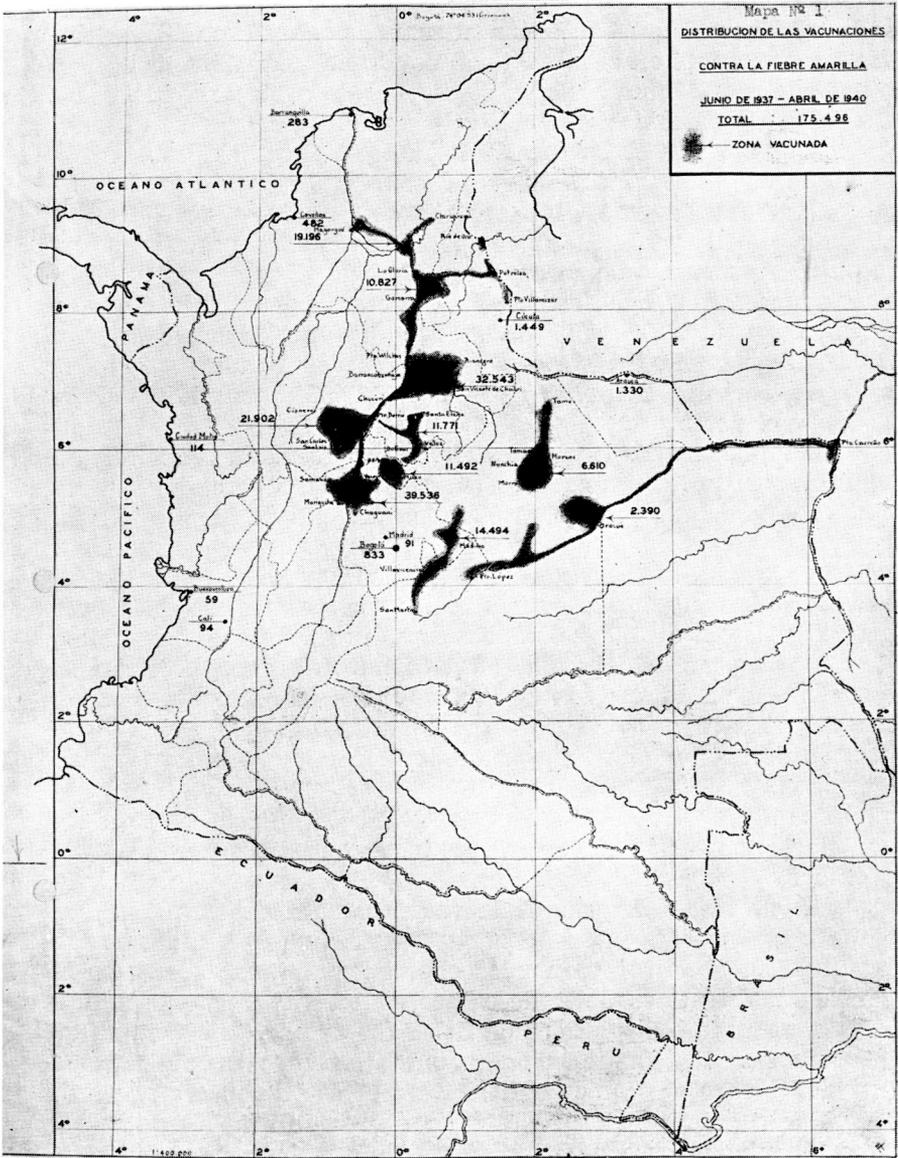
* Vendida por "The Crosley Radio Corporation, Cincinnati, Ohio".

Al escribir este informe el programa anterior está lejos de hallarse terminado, aun cuando se ha adelantado bastante en el cumplimiento de los objetivos buscados. A medida que se adquieran mayores conocimientos de la epidemiología y distribución de la fiebre amarilla en el país habrá, naturalmente, que modificar los planes, y no es improbable que la vacunación en masa pueda llegar a jugar un importante papel en el control mismo de la fiebre amarilla.

Han sido vacunadas personas de todas las edades, desde niños de 6 meses para arriba. Las comisiones vacunadoras han tenido diferente acogida en las diferentes poblaciones, acogida que guarda relación directa con la severidad y proximidad del último brote epidémico en cada lugar. Por ejemplo, en Muzo y en San Vicente de Chucurí, donde hacía poco se habían presentado casos, fué posible vacunar entre el 60 y el 65% de la población total, mientras que en otros municipios donde se vacunaba de acuerdo con los puntos 2 y 3 del programa, el número de personas que se sometían a la vacunación a veces no pasaba del 20%. Sin embargo, de junio de 1937 a abril de 1940 han sido vacunadas 175,496 personas, (véase Fig. N° 1 y Mapa N° 1), y las vacunaciones continúan en número mayor de 10,000 por mes.

Control de los Resultados de la Vacunación. En los comienzos del programa se acostumbraba probar la vitalidad del virus usado en cada grupo de vacunados inoculando intracerebralmente uno o más grupos de ratones con el sobrante de la vacuna. Sin embargo, en un programa de vacunación de vastas proporciones, este método de control es impracticable y, además, la experiencia obtenida en el Brasil (15) demuestra que la prueba de inmunidad verificada sobre un número adecuado de vacunados es la mejor prueba de la eficacia de la vacuna. Siguiendo este método de control, se tomaron medidas para la recolección de sueros entre tantos grupos vacunados con diferentes lotes de vacuna como fuera práctico, en el mismo orden de la vacunación, pero dejando por lo regular un intervalo de 4 a 8 semanas entre una operación y la otra. En esta forma el laboratorio central comprueba el trabajo de cada una de las comisiones.

En el Cuadro N° 1 se pueden ver claramente los resultados de la prueba de inmunidad hecha a 504 vacunados cuyo suero había dado resultado negativo antes de la vacunación. Treinta y nueve, o sea el 7.7%, no mostraron rastros de inmunidad en la prueba rutinaria en ratones; 179, o el 35.5%, protegieron parte de los ratones de cada grupo, indicando así la presencia de anticuerpos específicos, pero no en grandes cantidades, y los 286 restantes demostraron poseer completa inmunidad.

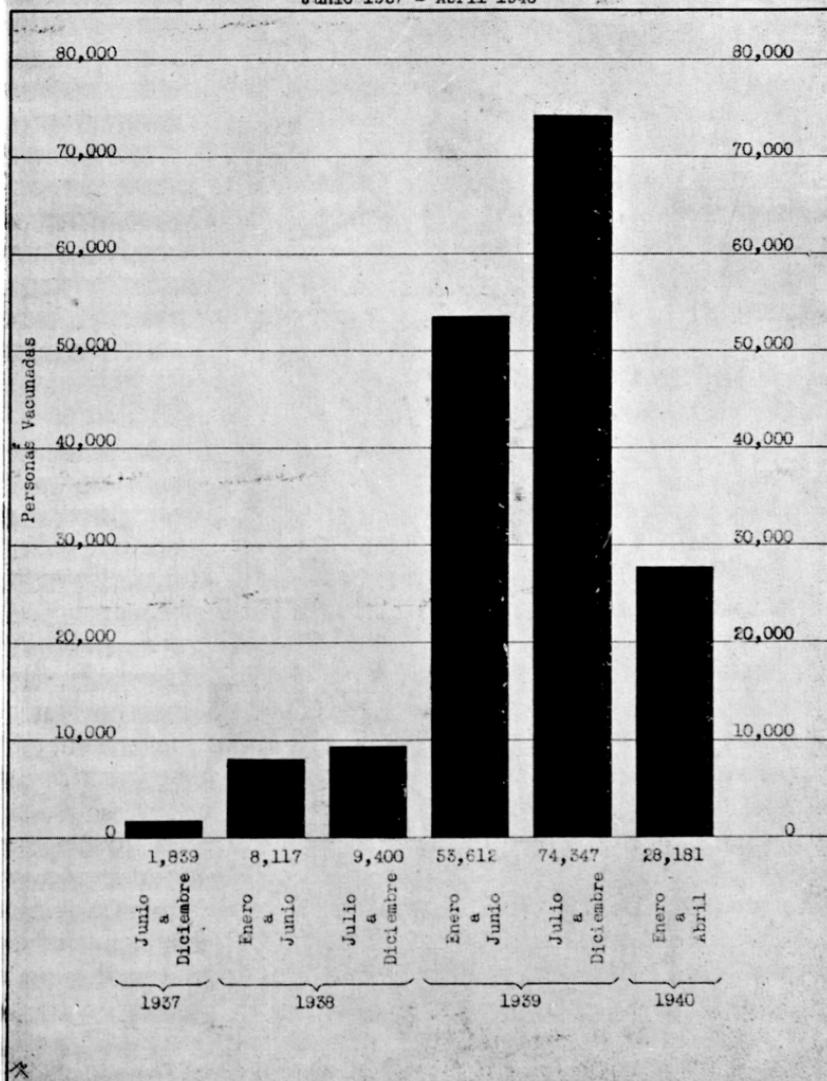


El Cuadro N^o 2 es un resumen de todas las vacunaciones y de los resultados de las pruebas de protección post-vacunación (inclusive las del Cuadro N^o 1) de que trata este trabajo, y allí puede observarse que 48,511 vacunaciones se hicieron con vacuna preparada en Nueva York, 8,669 con vacuna del Brasil y 118,316 con vacuna preparada en el laboratorio de Bogotá. También condensa este Cuadro el resultado de 2,139 pruebas de protección post-vacunación. En general, los resultados de este grupo mayor no difieren de los que muestra el Cuadro N^o 1. De los 136 sueros post-vacunación que no tuvieron inmunidad, 56 son de personas a las que se administró vacuna cuyo título variaba de 1 en 50 a 1 en 200 en el momento de despacharla al campo. Experiencias posteriores demostraron que una vacuna cuya cantidad de virus es tan pequeña no sirve para usar en el campo. En la actualidad solamente se usa en el campo vacuna cuyo título en ratones es por lo menos de 1 en 500 y preferiblemente de 1 en 1,000, con lo cual cada persona vacunada recibe una dosis teórica de 850 a 1,700 dosis mínimas letales para el ratón.

En el Cuadro N^o 3 se pueden ver los resultados del cálculo cuantitativo de los anticuerpos del suero de 52 personas sangradas, con pocas excepciones, 4 semanas después de la vacunación. Para controlar estas titulaciones de anticuerpos se emplearon 3 mezclas diferentes de suero humano inmune proveniente de personas inmunizadas por infección natural. En general, se puede ver que es menor la cantidad de anticuerpos provocada por la vacunación que la provocada por la infección natural. También llama la atención la gran diferencia en la producción de anticuerpos en diferentes individuos vacunados, así como la mayor o menor producción de anticuerpos no depende de la cantidad de virus-vacuna inoculada.

Reacciones a la Vacuna. Un considerable número de personas han sido observadas cuidadosamente en el laboratorio y muchas en el campo, no solamente en los primeros días sino por varias semanas y hasta meses después de la vacunación, sin notarse ninguna reacción severa. En general, puede decirse que aproximadamente del 10 al 15% de los vacunados experimentan una leve reacción clínica consistente en dolor de cabeza, dolores en el cuerpo, y desaliento, con uno o dos grados de fiebre del 4^o al 9^o día después de la vacunación. La duración de estos síntomas es cuando más de dos días y rara vez son lo suficientemente fuertes para obligar al individuo a guardar cama. No se ha observado después de la vacunación ningún caso de ictericia tardía semejante a aquéllos de que Findlay habló primero en Londres (16). Durante un brote activo de fiebre amarilla dentro del área de Caparrapí, falleció un hombre a causa de la enfermedad tres días después de haber sido

Figura 1
 Progreso de la Vacunación Antiámfarilica en Colombia
 Junio 1937 - Abril 1940



vacunado. Como puede verse en los estudios preliminares con la vacuna 17D en el Brasil (12), la producción de anticuerpos demostrables en la sangre no comienza sino hasta después de siete días, así que no es de esperar protección antes.

Seguridad de la Vacunación para el Público. A pesar de que el personal de dos laboratorios distintos (17) (18) no ha logrado la transmisión del virus 17D por *Aedes aegypti*, hay todavía una posibilidad teórica de que el virus de la vacuna pueda ser transmitido por este vector. En casi tres años de experiencia con este virus en Colombia, se le ha empleado en gran escala repetidas veces en presencia del *Aedes aegypti* y de otros vectores selváticos del virus, y en ningún caso ha habido señas de una transmisión del virus-vacuna por insectos intermediarios. Es también importante notar que aun cuando el virus 17D ha sido sometido a extensas manipulaciones en varios laboratorios por muchos investigadores, no ha mostrado tendencia alguna a tornar a su forma virulenta para el mono o el hombre.

Duración de la Inmunidad después de la Vacunación. Para poder desarrollar un programa inteligente de vacunación es esencial conocer la duración probable de la inmunidad que confiere la vacuna. Sin embargo el virus 17D se ha usado durante un tiempo relativamente tan corto, que es imposible sacar todavía una conclusión respecto a la duración de la inmunidad que le da al hombre. En Colombia se han hecho algunas observaciones sobre unos pocos individuos a diferentes intervalos después de la vacunación. Un grupo de 24 trabajadores de carretera en Cantino (Boyacá), cuya prueba de inmunidad antes de ser vacunados dió resultado negativo, fueron sangrados uno y 23 meses después de la vacunación. Si bien el suero de algunos de ellos demostró alguna disminución en la cantidad de anticuerpos al cabo de los 23 meses, solamente uno dió prueba de protección negativa. El suero de ese mismo individuo probado un mes después de la vacunación tenía una inmunidad muy débil. De 12 personas vacunadas en el laboratorio de Bogotá y sangradas de 22 a 32 meses después todas demostraron completa inmunidad. Por esta razón puede afirmarse, sin riesgo a equivocarse, que en general la inmunidad dura por lo menos dos años. Será menester determinar mediante otros estudios a qué intervalos debe llevarse a cabo la re-vacunación.

Costo de la Producción de la Vacuna y de su Aplicación en el Campo. El costo es factor de gran importancia en todo procedimiento cuya adopción se recomiende a los servicios de higiene pública. Sobra decir que el costo de la producción de vacuna depende en sumo grado de la cantidad elaborada. Entre enero de 1939 y abril de 1940 se prepararon en el laboratorio de Bogotá 84 lotes con un total de 21,600 c.c. de vacuna 17D con un costo aproximado de ocho

y tercio centavos por dosis. El promedio del costo de la aplicación de esta vacuna ha sido aproximadamente de veinte y cuatro quintos centavos por persona, quedando incluidos los gastos de recolección y pruebas de sueros post-vacunación.

Comentario.

Por casi tres años se ha usado en Colombia vacuna preparada con cultivos de virus 17D para la vacunación humana contra la fiebre amarilla en gran escala y por más de un año su producción se ha llevado a cabo en la Sección de Estudios Especiales del Ministerio de Trabajo, Higiene y Previsión Social. Se ha mantenido de la virulencia de esta cepa de virus modificada y para no dejar una constante vigilancia para descubrir cualquier retorno posible pasar desapercibidas cualesquiera reacciones de naturaleza alarmante, causadas por la vacuna, sin haberse observado señal alguna de un aumento tal de la virulencia. Por el contrario, una de las características de la vacuna ha sido la de poder emplearse con seguridad absoluta.

Como resultado de la experiencia alcanzada en la producción de la vacuna es posible obtener ahora un alto porcentaje de lotes con una cantidad satisfactoria de virus activo. Sin embargo, todavía presenta algunas dificultades el desecar la vacuna en forma tan satisfactoria que se conserve la cantidad original de virus activo tiempo suficiente para hacer las pruebas necesarias en animales y para distribuirla y aplicarla. Se requiere un constante cuidado para lograr la manipulación adecuada de la vacuna sobre el terreno y para reducir a un mínimo por parte de las comisiones vacunadoras los errores técnicos que pueden dar lugar a la inoculación de virus inactivo.

En el III Congreso Internacional de Microbiología que se reunió en Nueva York en septiembre de 1939, Soper (19) informó que algunos lotes de vacuna preparados en el laboratorio de Río de Janeiro no habían dado resultados satisfactorios al usarlos en el campo. En el período epidémico de 1938 a 1939 hubo considerable número de defunciones por fiebre amarilla entre individuos vacunados anteriormente con varios lotes de vacuna preparados con virus 17D que había sido pasado por más de 300 subcultivos. Se presentaron algunos datos que sugerían una disminución de la antigenicidad del virus 17D causada por el continuo cultivo. Pero en Colombia existe la circunstancia de que no se ha hecho uso de virus muy cultivado para la vacunación humana. Sin embargo, se están llevando a cabo experimentos tanto en el laboratorio de Río de Janeiro como en el de Bogotá, para determinar la causa del fracaso.

so parcial de esos lotes de vacuna en el Brasil, y como resultado de lo ocurrido se efectúan ahora controles más cuidadosos de la eficacia antigénica de la vacuna.

En Colombia se ha usado la vacunación durante brotes activos de fiebre amarilla selvática en Landázuri en 1937, en Caparrapí en 1938, en Antioquia en 1939 y en Caldas en 1940, con resultados aparentemente excelentes comparables a los obtenidos en el Brasil en 1938 (15). La incidencia de la fiebre amarilla entre las poblaciones expuestas disminuye rápidamente con la vacunación. Se sabe únicamente de una persona vacunada en Colombia que haya muerto de fiebre amarilla, y eso sólo tres días después de la vacunación, cuando todavía no había anticuerpos en la sangre.

Resumen.

Entre junio de 1937 y abril de 1940 se han vacunado en Colombia contra la fiebre amarilla 175,496 personas usando el virus 17D. Este método de inmunización ha resultado ser práctico, seguro, relativamente barato y eficaz. Las 2,139 pruebas de inmunidad post-vacunación llevadas a cabo indican que aproximadamente el 90% de las personas vacunadas en el campo obtiene inmunidad comprobable. Los datos disponibles sugieren que en general la inmunidad otorgada por la vacunación dura por lo menos dos años.

Los autores desean dejar constancia de la valiosa ayuda prestada por el Dr. J. A. Kerr, quien tuvo a su cargo iniciar esta labor y bajo cuya dirección se efectuaron las primeras 10,000 vacunaciones; por el Dr. J. H. Bauer, en cuyo laboratorio de Nueva York fué producida la mayor parte de la vacuna usada en Colombia hasta mayo de 1939, y por los doctores Hugo H. Laemmert, José E. Avellaneda, José Pablo Leyva, Pedro José Pinto, Luis Enrique Peña Peña, José Gregorio Baquero y José Rodríguez Bermúdez, quienes repetidamente hicieron penosos viajes y trabajos con devoción y competencia, muchas veces en condiciones difíciles, aplicando la vacuna en las zonas rurales de muchos rincones del país.

CUADRO I

Inmunidad a la fiebre amarilla después de la vacunación de personas cuyo suero no protegía ratones blancos antes de ella, medida con la prueba de protección.

N.º de lote de vacuna	N.º de pases en cultivo	Título de vacuna rehidratada (oo)	Número de personas probadas	Resultados de prueba de protección en ratones			
				Protección total	Protección parcial	Ninguna protección	Porcentaje no protegido
N.Y.50*	272	6.000	283	136	130	17	6,0
N.Y.51 ^o	274	35	8	6	2	0	0
N.Y.52 ^o	275	50	5	2	2	1	20,0
N.Y.63 ⁿ	217	50	6	2	2	2	33,3
N.Y.64	219	200	4	4	0	0	0
N.Y.64 y	219 y						
N.Y.66	223	250	48	35	7	6	12,5
N.Y.65	222	200	1	1	0	0	0
N.Y.66	223	300	80	62	14	4	5,0
N.Y.72	241	500	16	14	1	1	6,3
N.Y.74	218	150	35	16	16	3	8,6
N.Y.81	218	1.000	4	3	1	0	0
Río 78**		170	13	4	4	5	38,5
Bog.5***	252	400	1	1	0	0	0
TOTALES. . .			504	286	179	39	7,7

* Preparada en los Laboratorios de la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller en Nueva York.

** Preparada en el Laboratorio del Servicio de Fiebre Amarilla en Río de Janeiro.

*** Preparada en el Laboratorio de la Sección de Estudios Especiales en Bogotá.

^o Usada sin diluir en la vacunación individual de algunas personas.

^{oo} Llámase "end-point" o punto final de una titulación de virus en ratones, aquella dilución del virus que, inyectada en cerebro de ratón en cantidad de 0.03 c. c., produce una mortalidad del 50%.

CUADRO II

Resumen de las vacunaciones y resultados de las pruebas de protección post-vacunación con cada lote de vacuna usada en el campo.

N.º de lote de vacuna	N.º de pases en cultivo	Título de vacuna rehidratada (o/e)	N.º de personas vacunadas	N.º de personas probadas	Resultados de prueba de protección en ratones				
					Protección total	Protección parcial	Ninguna protección	Porcentaje no protegido	
N.Y.50*	272	6.000	567	412	238	148	26	6,3	
N.Y.51°	274	33	38	10	8	2	0	0	
N.Y.52°	275	50	30	7	4	2	1	14,3	
N.Y.59	204	300	1.072	12	9	3	0	0	
N.Y.63	217	50	420	24	11	7	6	25,0	
N.Y.64	219	200	758	8	5	3	0	0	
N.Y.65	222	200	442	7	2	4	1	14,3	
N.Y.66	223	300	1.044	91	58	25	8	8	
N.Y.64 y 65	219 222	200	91	88	37	34	17	19,3	
N.Y.64 y 66	219 223	250	1.005	72	47	19	6	8,3	
N.Y.66 y Río 78	223	240	120						
N.Y.72	241	500	3.280	294	139	126	29	9,9	
N.Y.74	218	150	356	149	68	75	6	4,0	
N.Y.75	221	1.000	1.560	38	32	5	1	2,6	
N.Y.76	224	1.000	810	5	3	2	0	0	
N.Y.80	215	1.000	2.753	19	16	2	1	5,3	
N.Y.81	218	1.000	2.001	6	6	0	0	0	
N.Y.86	215	100	502	3	3	0	0	0	
N.Y.87	214	400	3.544						
N.Y.88	213	1.000	3.419						
N.Y.89	256	1.000	1.338						
N.Y.90	256	500	902	3	3	0	0	0	
N.Y.91	213	1.000	3.377	70	56	12	2	2,9	
N.Y.92	213	1.000	6.778	135	103	30	2	1,5	
N.Y.93	256	1.000	3.155	25	19	4	2	8,0	
N.Y.95	256	2.000	4.676	9	6	2	1	11,1	
N.Y.96	256	1.000	4.473	5	4	1	0	0	
Río 78**		170	64	15	5	4	6	40,0	
Río 210		500	797	26	24	2	0	0	
Río 256		180	7.808						
Bog.1***	232	50	613	38	19	1	18	47,4	
Bog.2	241	500	1.777	76	69	6	1	1,3	
Bog.3	245	400	2.053	61	59	1	1	1,6	
PASAN . . .				61.623	1708	1053	520	135	—

C U A D R O II (Continuación)

N.º de lote de vacuna	N.º de pases en cultivo	Título de vacunare-hidratada (oo)	Número de personas vacunadas	N.º de personas probadas	Resultados de prueba de protección en ratones			
					Protección total	Protección parcial	Ninguna protección	Porcentaje no protegido
Vienen	61.623	1.708	1.053	520	135	—
Bog. 5	252	400	507	36	28	7	1	2,8
Bog. 6	246	2.000	3.225					
Bog. 7	254	300	1.115	32	26	3	3	9,4
Bog. 8	255	500	4.204	213	174	33	6	2,8
Bog. 9	248	500	2.868	5	2	2	1	20,0
Bog.10	256	1.000	1.769					
Bog.11	238	200	2					
Bog.12	250	150	2.375	46	28	11	7	15,2
Bog.13	238	1.500	3.510					
Bog.14	247	1.000	3.784	99	80	16	3	3,0
Bog.15	242	3.000	4.947					
Bog.16	243	6.000	2.367					
Bog.17	244	10.000	2.707					
Bog.18	245	1.500	4.289					
Bog.19	260	1.000	5.360					
Bog.20	262	7.500	3.372					
Bog.21	248	500	808					
Bog.23	264	4.000	5.660					
Bog.25	251	4.000	4.030					
Bog.26	266	1.000	5.226					
Bog.27	252	2.000	5.046					
Bog.28	253	500	3.219					
Bog.29	268	500	5.657					
Bog.30	254	100	16					
Bog.31	255	300	3.336					
Bog.32	270	500	3.175					
Bog.33	272	100	446					
Bog.34	258	800	1.706					
Bog.35	259	400	7					
Bog.36	274	50	11					
Bog.37	252	2.000	2.173					
Bog.39	251	250	2					
Bog.44	255	800	2.288					
Bog.45	282	1.000	393					
Bog.47	259	500	2.413					
Bog.48	232	1.000	2.252					
Bog.54	234	2.000	3.620					
Bog.61	241	1.000	5.388					
PASAN . . .			164.896	2.139	1.391	592	156	—

CUADRO II (Continuación)

N.º de lote de vacuna	N.º de pases en cultivo	Título de vacuna rehidratada (oo)	N.º de personas vacunadas	N.º de personas probadas	Resultados de prueba de protección en ratones			
					Protección total	Protección parcial	Ninguna protección	Porcentaje no protegido
Viñen	164.896	2.139	1.391	592	156	—
Bog.67	249	1.500	1.801					
Bog.69	247	1.000	4.542					
Bog.70	225	300	3.322					
Bog.71	227	300	895					
Bog.72	244	300	7					
Bog.73	231	700	3					
Bog.74	233	1.500	1					
Bog.81	342	2.000	29					
TOTALES.			175.496	2.139	1.391	592	156	7,3

* Preparada en los Laboratorios de la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller en Nueva York.

** Preparada en el Laboratorio del Servicio de Fiebre Amarilla en Río de Janeiro.

*** Preparada en el Laboratorio de la sección de Estudios Especiales en Bogotá.

o Usada sin diluir en la vacunación individual de algunas personas.

oo Llámase "end-point" o punto final de una titulación de virus en ratones, aquella dilución del virus que, inyectada en cerebro de ratón en cantidad de 0.03 c. c., produce una mortalidad del 50%.

CUADRO III

Reacción protectora de los anticuerpos en personas no inmunes* a raíz de la vacunación con virus 17D cultivado.

Número de serie	Personas vacunadas	Edad en años	N.º de lote de vacuna	Sub-cultivo número	**Cantidad de virus inculcado medido en D.M.I.+ para ratones	Número de semanas entre la vacunación y la sangría para prueba	Título de los anticuerpos del suero ***	Título de los anticuerpos del control inmune****		
								Pool 19	Pool 21	Pool 25
1	R. S.	23	N.Y.50	272	11.000	8	16		26	20
2	I. S.	21	N.Y.51	274	68	8	6		"	"
3	P. A. L.	30	N.Y.50	272	22.000	16	4		"	"
4	T. S. V.	37	N.Y.50	272	810	16	9		"	"
5	B. A. S.	22	Río 78	?	280	4	16		8	33
6	L. F. C.	28	"	?	280	4	41		"	"
7	L. A. R.	25	"	?	280	4	76		"	"
8	C. B.	30	N.Y.63	217	135	4	10		"	"
9	J. W. B.	30	Río 78	?	280	32	4		7	"
10	A. U. C.	27	N.Y.50	272	22.000	4	37	16		
11	E. P.	37	"	"	5.500	"	4	10		90
12	F. N.	25	"	"	"	"	7	"		"
13	A. C.	30	"	"	"	"	12	"		"
14	P. G.	23	"	"	"	"	6	"		"
15	R. P.	19	"	"	"	"	5	"		"
16	N. E.	27	"	"	"	"	90	14		80
17	J. C. R.	21	"	"	"	"	2	"		"
18	D. V.	22	"	"	"	"	3	"		"
19	L. R.	16	"	"	"	"	10	"		"
20	A. R.	30	"	"	"	"	3	"		"
21	J. G.	20	"	"	"	"	20	"		"
22	E. C.	29	"	"	"	"	Inc.	"		"
23	A. M.	27	"	"	"	"	3	"		"
24	M. B.	17	"	"	"	"	3	"		"
25	A. B.	50	"	"	"	"	2	28		45
26	S. C.	22	"	"	"	"	5	"		"
27	A. C.	21	"	"	"	"	5	"		"
28	P. E. C.	22	N.Y.74	218	560	"	26	9		32
29	J. M.	20	"	"	"	"	38	"		"
30	J. E. A.	21	"	"	"	"	11	"		"
31	A. A.	23	"	"	"	"	1	"		"
32	C. M.	20	"	"	"	"	11	"		"
33	A. L.	20	"	"	"	"	9	"		"
34	L. M.	20	"	"	"	"	4	"		"
35	C. P.	18	"	"	"	"	3	"		"
36	M. M.	22	"	"	"	"	11	"		"
37	P. N.	18	"	"	"	"	7	19		"
38	V. O.	25	"	"	"	"	7	"		26
39	F. O.	18	"	"	"	"	90	"		"
40	R. L.	27	"	"	"	"	54	"		"

CUADRO III (Continuación)

Número de serie	Personas vacunadas	Edad en años	N.º de lote de vacuna	Sub-cultivo número	**Cantidad de virus inoculado medido en D.M.L. + para ratones	Número de semanas entre la vacunación y la sangría para prueba	Título de los anticuerpos del suero ***	Título de los anticuerpos del control inmune****		
								Pool 19	Pool 21	Pool 25
41	Q. C.	25	N.Y.74	218	560	4	7	19		26
42	M. R.	24	"	"	"	"	39	"		"
43	A. L.	23	"	"	"	"	20	"		"
44	M. I.	19	"	"	56	"	64	"		"
45	V. V.	20	"	"	"	"	79	"		"
46	J. J. L.	24	"	"	"	"	4	10		90
47	T. O.	20	"	"	"	"	13	"		"
48	E. C.	20	"	"	"	"	13	"		"
49	A. L.	19	"	"	"	"	3	"		"
50	R. S.	20	N.Y.81	"	3.875	"	23	"	7	"
51	L. G.	22	"	"	"	"	64	"	7	"
52	A. R.	22	"	"	"	"	8	"	7	"

* El suero de todas estas personas se sometió a la prueba de protección en ratones antes de la vacunación y dió resultado negativo.

** Llámase "end-point" o punto final de una titulación de virus en ratones, aquella dilución del virus que, inyectada en cerebro de ratón en cantidad de 0.03 c. c., produce una mortalidad del 50%.

*** Se entiende por título de los anticuerpos de un suero la dilución del suero que debe proteger contra virus neurotrópico la mitad de los ratones inoculados.

**** Pools de suero obtenido de personas inmunizadas por infección natural.

+ D. M. L. = Dosis mínimas letales.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Theiler, M. "Studies on the Action of Yellow Fever Virus in Mice". *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1930, *24*, 249-272.
- (2) Sawyer, W. A., Kitchen, S. F. y Lloyd, W. "Vaccination against Yellow Fever with Immune Serum and Virus Fixed for Mice". *Journal of Experimental Medicine*, 1932, *55*, 945-969.
- (3) Berry, G. P. y Kitchen, S. F. "Yellow Fever Accidentally Contracted in the Laboratory". *American Journal of Tropical Medicine*, 1931, *11*, 365-434.
- (4) Sawyer, W. A. "Experience in Vaccinating Against Yellow Fever with Immune Human Serum and Virus Fixed for Mice". *American Journal of Hygiene*, 1937, *25*, 221-231.
- (5) Findlay, G. M. "Immunization against Yellow Fever". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1934, *27*, 437-464.
- (6) Pettit, A. y Stefanopoulo, G. J. "La Vaccination antiamaire à l'Institut Pasteur". *Bulletin de l'Office international d'hygiène publique*, 1934, *26*, 1075-1077.
- (7) Soper, F. L. "Vacinação contra a Febre Amarella no Brasil de 1930 a 1937". *Arquivos de Hygiene*, 1937, *7*, 379-390.
- (8) Lloyd, W., Theiler, M. y Ricci, N. I. "Modification of the Virulence of Yellow Fever Virus by Cultivation in Tissues *In Vitro*". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1936, *29*, 481-529.
- (9) Lloyd, W. "L'emploi d'un virus cultivé associé à l'immunsérum dans la vaccination contre la fièvre jaune". *Bulletin de l'Office international d'hygiène publique*. 1935, *27*, 2365-2368.
- (10) Soper, F. L. y Smith, H. H. "Yellow Fever Vaccination with Cultivated Virus and Immune and Hyperimmune Serum". *American Journal of Tropical Medicine*, 1938, *18*, 111-134.
- (11) Theiler, M. y Smith, H. H. "The Use of Yellow Fever Virus Modified by *In Vitro* Cultivation for Human Immunization". *Journal of Experimental Medicine*, 1937, *65*, 787-800.
- (12) Smith, H. H., Penna, H. A. y Paoliello, A. "Yellow Fever Vaccination with Cultured Virus (17D) without Immune Serum". *American Journal of Tropical Medicine*, 1938, *18*, 437-468.
- (13) Reed, L. J. y Muench, H. "A Simple Method of Estimating Fifty Percent End-points". *American Journal of Hygiene*, 1938, *27*, 493-497.
- (14) Sawyer, W. A. y Lloyd, W. "The Use of Mice in Tests of Immunity Against Yellow Fever". *Journal of Experimental Medicine*, 1931, *54*, 533-555.
- (15) Soper, F. L. y Smith, H. H. "Vaccination with Virus 17D

in the Control of Jungle Yellow Fever in Brazil". Transactions of the Third International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Amsterdam, 1938, Vol. I, 295-313.

(16) Findlay, G. M. y MacCallum, F. O. "Note on Acute Hepatitis and Yellow Fever Immunization". Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1937, 31, 297-308.

(17) Whitman, Loring, "Failure of *Aedes aegypti* to Transmit Yellow Fever Cultured Virus (17D)". American Journal of Tropical Medicine, 1939, 19, 19-26.

(18) Roubaud, E., Stefanopoulo, G. J. y Findlay, G. M. "Essais de transmission par les stegomyies du virus amaril de cultures en tissu embryonnaire". Bulletins de la Societé de pathologie exotique, 1937, 30, 581-583.

(19) Soper, F. L., Smith, H. H. y Penna, H. A. "Yellow Fever Vaccination: Field Results as Measured by the Mouse Protection Test and Epidemiological Observations". Transactions of the Third International Congress of Microbiology, New York, 1939.

