

Sueros Antirrábicos de alto título

I PARTE

Preparación, titulación, aplicación experimental y en medicina humana

POR LOS DOCTORES

PEDRO J. SCHANG *, CARLOS A. MAZZINI **, ANA M. GIACOSA
de CRESCINI ***, ALBERTO C. CRESCINI ****

Este trabajo tiene como finalidad principal la de demostrar los altos títulos logrados en nuestros sueros antirrábicos preparados en equinos hiperinmunizados con la técnica a "largo plazo". Títulos cuya medición ha sido realizada en varios controles, en la Cátedra de Sueros y Vacunas de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y en el Instituto Carlos Malbrán. Hay en este trabajo, una colaboración de distintas profesiones y especialidades que nos llevan desde la preparación del suero, a su fraccionamiento, a su medición por electroforesis, a la titulación biológica, aplicación experimental de esos sueros y a su utilización luego en la prevención de la rabia humana en mordidos graves.

Expondremos primero una breve reseña sobre la historia de la preparación del suero y después su medición, aplicaciones experimentales y en el hombre.

Este trabajo fue comunicado en la Asociación Argentina de Microbiología el 8 de noviembre de 1957 y entregado para su publicación en octubre de 1958.

* Profesor titular de Sueros y Vacunas.

** Profesor adjunto de Sueros y Vacunas.

*** Jefa de Trabajos Prácticos de Sueros y Vacunas.

**** Auxiliar de Laboratorio de Sueros y Vacunas.

HISTORIA Y ANTECEDENTES

Babes y Lepp (1), Tizzoni y Centani (13) demostraron que era posible obtener sueros rábicos; Marie (7-8) preparó una vacuna con virus adicionada de suero; Fermi (3) en 1909 estudió comparativamente el valor protector de sueros antirrábicos preparados en caballo, asno, oveja, perro y ganso, obteniendo el mejor título en caballo y decreciendo su valor en las otras especies, en el orden anotado; inmuniza con vacuna antirrábica fenicada en dos períodos, separados por quince días de descanso; al término de todo el proceso inmunológico, aprecia su resultado determinando el poder virulicida y protector del suero antirrábico sobre ratones blancos inoculados previamente con virus fijo y por vía subcutánea.

Proca, Babes y Jonesco (9-10) aplican suero o suero y luego vacuna al hombre mordido por perros rabiosos. Preparan sueros en ovinos inmunizados con virus vivo atenuado y en asno tratado con vacuna fenicada, en 1938. Estos autores manifiestan que en los casos de mordeduras en la cabeza, el suero antirrábico suministrado al fin del tratamiento y en dosis suficiente actúa como coadyuvante en la inmunización activa de Pasteur, reduciendo los casos de mortalidad.

Habel, K. (5) en 1945, prepara suero en conejos; el virus inoculado por vía intradérmica produjo los más altos títulos de anticuerpos protectores. En resumen, declara que el suero da mejores resultados que la vacuna en el tratamiento post-infeccioso de la rabia y es más efectivo cuando se aplica por vía intramuscular en el lugar de la mordedura, que por vía subcutánea en cualquier parte y que usado contra el virus de calle es mejor cuando se aplica combinado con la vacuna. Habel nos dice que la sueroprofilaxis combinada con vacuna como tratamiento, es más eficaz cuando hay un intervalo de seis días entre la dosis de suero y el comienzo de la serie de vacuna.

El primer trabajo que realizamos en colaboración con los doctores Rodríguez Loustau, J. A. y Rizzo, H. fue presentado al Vº Congreso Internacional de Microbiología, en Brasil (Quintandinha) en 1950 (11). Allí estudiamos la producción de anticuerpos, hiperinmunizando conejos, ovinos y equinos por distintas vías y con virus de rabia paralítica de los bovinos. La hiperinmunización fue hecha a corto y largo plazo. El trabajo tenía como finalidad estudiar el mejor método y la mejor especie para obtener buen suero antirrábico. Quedó demostrado que en orden de actividad neutralizante, los mejores sueros fueron los obtenidos en equinos, y en orden decreciente los de conejos y ovinos.

En aquel congreso hubo acuerdo en que la mayoría de los laboratorios estaban utilizando ovinos, justamente la especie que nos había dado los sueros de más bajo título antirrábico. Además quedó demostrado con este trabajo que, la técnica a largo plazo había dado los mejores sueros en los equinos. La medición se hizo neutralizando in vitro seis dosis mínimas mortales para el conejo con cantidades decrecientes de suero, e inoculando conejos por vía intracerebral. No había por entonces acuerdo sobre técnicas de medición.

Kodrnja, E. (6), mediante una larga hiperinmunización con virus fijo muerto y virus vivo prepara en dos caballos y cuatro ovejas suero antirrábico.

El valor neutralizante del suero antirrábico de caballo es elevado después de un año de hiperinmunización. El suero diluído al 50 % y al 20 % neutraliza casi completamente virus fijo al 10 % en pruebas intracerebrales en conejos.

La acción del suero antirrábico de equino es probada in vivo en 40 ensayos sobre 479 animales (252 conejos, 155 ovejas y 72 equinos) y 246 animales testigos (98 conejos, 92 ovejas y 56 equinos), inyectando el suero 4 y 1 día antes, simultáneamente ó 1 día después de la infección. Los animales tratados y testigos son inyectados por vía intracerebral con virus fijo diluído 1/100 para ovejas y equinos y 1/1000 a 1/5000 para el conejo. Todos los testigos y el 71 % de los tratados se enferman.

Sobre 60 animales que han comenzado a recibir el suero, 3 ó 4 días antes de la prueba, el 55 % enferma. Sobre 152 animales que han comenzado a recibir suero 1 día antes, el 67 % enferma.

Baltazard M. y Bahmanyar M. (2) realizaron decisivo ensayo del suero antirrábico en una serie de personas mordidas por un lobo rabioso y con singular gravedad. Se hicieron dos grupos que presentaban mordeduras de gravedad comparables, uno de ellos, el grupo "testigo", fue tratado con vacuna fenicada clásica, y el otro con suero seguido de vacuna.

De los 29 heridos, los 11 que presentaron lesiones en tronco y extremidades fueron divididos en dos grupos: 4 recibieron suero y vacuna y 7 vacuna solamente: no hubo defunciones en ninguno de los dos. De los 18 heridos en la cabeza, 7 recibieron 1 dosis de suero y 21 de vacuna, muriendo el lesionado más grave; 5 recibieron 2 dosis de suero (una el 1er. día y otra a los 5 días) y vacuna durante 21 días sin que hubiera tampoco defunciones y 5 recibieron vacuna durante 21 días de los que murieron 3. El herido restante con exposi-

ción y lesiones de meninges recibió suero el 1º, 3º, 5º, 7º, 9º y 10º día y vacuna durante 21 días: sobrevivió.

La mortalidad entre los mordidos que no recibieron suero fue la misma que se observó en el Instituto Pasteur de Irán, en los últimos 13 años: 3 muertos cada 5 heridos en la cabeza.

Preparación del suero antirrábico a largo plazo

Obtenidos los primeros resultados publicados en 1951 (11), hemos continuado con la preparación de nuevos sueros en la Cátedra y en Sancti Spiritu con la colaboración de los doctores S. Larroux y E. Peyla. Allí, hiperinmunizamos lotes paralelos de equinos, hiperinmunizados con virus fijo Pasteur y con virus fijo de rabia paralítica de los bovinos, siguiendo la técnica que hemos denominado "a largo plazo", consistente en dejar transcurrir, entre la primoinmunización y la descarga masiva del antígeno un intervalo de tiempo no menor de 4 a 6 meses, tiempo que hemos llevado a veces a 1½, 2 y 3 años con mejor éxito, en cuanto a los títulos logrados en los sueros.

El material antigénico utilizado para esas hiperinmunizaciones consistió en sustancia nerviosa —cerebro y cerebelo— de equinos inyectados por vía intracraneal con el respectivo virus y sacrificados ya agónicos a los 7 u 8 días. Esa sustancia nerviosa suspendida al 33 % en solución fisiológica y homogeneizada con licuadora fue filtrada por gasa. En las primeras series de animales suero productores, hiperinmunizamos siempre con ese virus cloroformado y transformado en vacuna Kelsner. Por su respuesta en título se comportó como un buen antígeno. Las dos últimas hiperinmunizaciones las hicimos en equinos con sobrecarga pero con un período de reposo de 1, 2 y 3 años y con virus fijo de los dos tipos, sin cloroformar, con su virulencia total.

Ritmo y dosis de hiperinmunización de los equinos suero productores

Completando el trabajo publicado en 1951, preparamos con los doctores S. Larroux y E. Peyla, 14 equinos suero productores y desde 1956 otros 6 más, hiperinmunizándolos paralelamente en forma estrictamente comparativa, en las mismas fechas y con iguales dosis de antígeno (vacuna de Kelsner), 7 con virus fijo Pasteur y 7 con virus fijo de rabia paralítica. Fueron los sueros de los controles comparados ya publicados. Los dos tipos de sueros fueron buenos y de neutralización recíproca.

Más tarde, esos equinos hiperinmunizados en 1951 y 1953, quedaron sin utilizar y fueron eliminados o murieron varios de ellos ya

muy viejos. En 1955 hiperinmunizamos solamente un sobreviviente de los de virus paralítico y en 1956, sin inyecciones intermedias, hiperinmunizamos con una sola dosis masiva a los 4 equinos que quedaron con virus sin atenuar, simplemente emulsionado al 33 % y en dosis de 20 cc. por vía intradérmica en varios puntos y 300 cc. intramuscular. Tanto el equino reforzado en 1955 con una dosis, como los tres sueroproductores últimos que llevaban tres años sin refuerzo de inmunidad, toleraron sin inconvenientes esas dosis. Los equinos fueron sangrados tres veces consecutivas; sangrías efectuadas a los 11 días de la primera y con intervalos de 5 a 7 días las otras dos.

Títulos de los sueros

Damos en primer término las títulos obtenidos en ratón hechos a nuestro pedido, por el doctor Arturo C. Sáenz en el Instituto Bacteriológico Carlos Malbrán. Efectuó las mediciones con los dos tipos de virus frente a sus correspondientes sueros.

Al mismo tiempo efectuó pruebas de protección en ratones con inyección simultánea de suero y virus y suero 24 horas después del virus, con prueba testigo de suero normal equino y virus.

Las técnicas, los títulos y las conclusiones del autor que se detallan a continuación son claras.

Prueba de neutralización

Se hicieron diluciones de virus en suero normal de equino al 10 % en solución fisiológica. Estas diluciones se hicieron de tal manera que, al agregarse el suero en partes iguales, se obtuviera la dilución final buscada. El suero se usó diluido al 1/2.

Una vez efectuadas las mezclas del virus-suero hiperinmune y de virus-suero normal, se incubaron dos horas a 37° C en baño de María y luego se inocularon 0,03 cc. por vía intracerebral a los ratones ligeramente anestesiados con éter.

Los animales fueron observados durante 20 días, se descartaron los muertos antes del 4º día.

El virus fijo fue neutralizado con suero hiperinmune preparado mediante inoculaciones de virus fijo Pasteur.

El virus fijo paralítico fue neutralizado con suero hiperinmune preparado mediante inoculaciones de virus fijo paralítico.

Virus fijo Pasteur. Suero antirrábico preparado con virus fijo Pasteur

Suero al 1/2	Dilución de virus						Título D.L. 50
	10 ⁻² (*)	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
Suero hiperinmune	1/6	2/6	0/6	0/4	0/4	—	< 10 ⁻²
Suero normal	6/6	5/5	5/5	6/6	1/4	0/5	10 ^{-5.66}

Poder neutralizante del suero > 4000 D.L. 50.

(*) Muertos / N^o de inoculados

Virus fijo paralítico. Suero antirrábico preparado con virus fijo paralítico

Suero al 1/2	Dilución de virus						Título D.L. 50
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
Suero hiperinmune	1/6	1/6	0/6	1/4	0/5	—	< 10 ⁻¹
Suero normal	—	—	6/6	6/6	3/5	0/6	10 ⁻⁵

Poder neutralizante del suero > 10.000 D.L. 50.

Prueba de protección.

Se hicieron las diluciones de virus en suero normal equino al 10 % en solución fisiológica. Se inocularon 0.2 cc. de las diluciones de virus por vía intramuscular en el músculo gastrocnemius. El suero fue inoculado por vía subcutánea en la región dorsal en cantidad de 1 cc.

Los ratones fueron observados durante 21 días. Se descartaron los que murieron antes del 4^o día. Se usó virus fijo paralítico y suero antirrábico, preparado mediante inoculaciones de virus fijo paralítico.

En los casos de inoculación llamada simultánea, se inoculó en cada animal primero el virus e inmediatamente después el suero.

Virus fijo paralítico. Suero antirrábico preparado con virus fijo paralítico.

	Suero hiperinmune simultáneo	Suero hiperinmune 24 hs. después	Suero normal simultáneo
Virus 10 ⁻¹ (10 D. L. 50)	1/10	9/15	15/16

Muertos/N^o de inoculados.

Titulación del virus fijo paralítico inoculado por vía intramuscular.

10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
8/8	2/7	1/7

Título: 10⁻².

Conclusiones: La prueba de neutralización efectuada con virus fijo Pasteur y suero antirrábico hiperinmune demostró un poder neutralizante en el suero superior a 4.000 D.L. 50.

La prueba de neutralización efectuada con virus fijo paralítico y suero antirrábico hiperinmune preparado mediante la inoculación del mismo virus en equino, mostró un poder neutralizante en el suero superior a 10.000 D.L. 50.

En la prueba de protección se inocularon los animales con 10 D.L. 50 de virus fijo paralítico. Cuando el suero hiperinmune se inoculó simultáneamente reveló una clara protección, pues sólo murió un ratón de los 10 inoculados, mientras que en los controles inoculados con suero normal, murieron 15 de 16 animales inoculados.

Cuando el suero hiperinmune se inoculó 24 horas después del virus, la acción protectora fue dudosa, pues murieron 9 de 15 ratones inoculados.

Otra prueba de protección realizada en condiciones semejantes a las aquí presentadas, dio resultados parecidos.

Suero de mayor título.

Con las mezclas de los sueros de las últimas hiperinmunizaciones efectuamos los controles que detallamos en su técnica y resultados. Se efectuó el control de estos sueros comparativamente con los mismos sueros que estudian desde el punto de vista de su fraccionamiento (por el alcohol metílico y por el sulfato de sodio) químico y electroforético los Dres. J. F. Frattini y C. A. Mazzini, 2ª parte de este trabajo.

Prueba de sueroneutralización.

Animales: se usaron ratones suizos albinos de 4 a 5 semanas de edad y de 11 a 14 gramos de peso.

Virus de prueba: se usó una cepa de virus fijo de rabia Pasteur, mantenida en ratón mediante pasajes por vía intracerebral.

Sueros: se usó el suero antirrábico sin agregado de antiséptico y diluído 1:10. Para los controles se usó suero normal equino.

1ª experiencia: este suero se utilizó comparativamente con el mismo suero, concentrado con alcohol metílico y diluído 1:40.

2ª experiencia: el mismo suero se utilizó comparativamente con el mismo suero, concentrado con alcohol metílico y diluído 1:30.

3ª experiencia: el mismo suero se utilizó comparativamente con globulina total diluída 1:10, obtenida a partir del mismo suero, precipitada con sulfato de sodio al 27 % y gamaglobulina diluída al 1:25 de la misma partida precipitada con sulfato de sodio al 17 %.

Técnica.

Se mezclaron volúmenes iguales de cada una de las muestras de suero con diluciones seriadas al décuplo de virus, desde 2×10^{-1} hasta 2×10^{-5} , para los sueros hiperinmunes y desde 2×10^{-4} hasta 2×10^{-8} para el suero normal. Como diluyente se usó suero normal equino al 10 % en agua destilada.

Se agitaron bien las mezclas y se colocaron en un baño de María a 37° C. durante una hora, después de lo cual se inocularon en ratones, por vía intracerebral y en dosis de 0,03 cc., comenzando con la inoculación de la mezcla suero hiperinmune-virus y finalizando con las de suero normal-virus.

Los ratones se observaron durante 21 días, al cabo de los cuales se dió por finalizada la prueba.

Resultados.

1ª experiencia.

Mortalidad en ratones inoculados con suero y diluciones de virus.

	Diluciones de virus								D. L. 50	Ind. Prot.	
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸			
Suero diluído 1:10	6/8	1/8	0/8	0/8	0/8	—	—	—	—	1,40	8.441
Suero concent. 1:40	7/8	4/7	1/8	1/8	1/8	—	—	—	—	2,32	1.031
Suero normal	—	—	—	7/8	4/7	2/8	1/8	0/8	—	5,33	

2ª experiencia.

Mortalidad en ratones inoculados con suero y diluciones de virus.

	Diluciones de virus								D. L. 50	Ind. Prot.	
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸			
Suero diluído 1:10	7/8	1/8	1/8	0/7	0/8	—	—	—	—	1,57	20.450
Suero concent. 1:30	/8	6/8	0/8	0/7	0/8	—	—	—	—	2,33	3.540
Suero normal	—	—	—	8/8	7/8	4/8	0/7	0/8	—	5,88	

3ª experiencia.

Mortalidad en ratones inoculados con suero y diluciones de virus.

	Diluciones de virus									D. L. 50	Ind. Prot.
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸			
Suero diluido	1:10	2/9	1/9	0/9	0/9	0/9	—	—	—	> 1	> 19.470
G.T. diluida	1:10	6/9	0/9	0/8	0/9	0/9	—	—	—	1,25	10.940
G.G. diluida	1:25	8/9	2/9	1/9	1/9	0/9	—	—	—	1.71	3.733
Suero normal	—	—	—	8/8	5/8	1/8	0/8	0/8	—	5,28	

Numerador: N° de animales muertos.

Denominador: N° de animales inoculados.

Para la determinación de los cálculos se siguió el método de Reed y Muench.

Posteriormente se realizó una prueba más pero esta vez enfrentando diluciones seriadas al duplo del suero con una dosis fija de virus.

Título del virus de rabia de Pasteur usado.

Mortalidad de ratones inoculados con diluciones de virus.

10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	D. L. 50
8/8	6/8	2/8	2/8	0/7	- 5,66

La D.L. 50 del virus se encuentra a la dilución 1:464.100. Para la prueba se usó una dilución 1:10.000, es decir 46 D.L. 50, que se encuentra dentro de la dosis descarga recomendada por la Organización Mundial de la Salud, 20 a 70 D.L. 50.

Mortalidad de ratones inoculados con 46 D.L. 50 de virus y diluciones de suero:

1:125	1:250	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
0/9	1/10	0/10	1/9	2/10	3/10

El poder protector mínimo del suero usado, frente a 46 D.L. 50 se encuentra a la dilución 1:4000.

Sólo nos faltaría un control comparativo con el suero patrón de la O.M.S., que no se ha realizado por no poder obtenerlo a pesar de las múltiples gestiones realizadas.

Aplicación experimental

Tanto los equinos hiperinmunizados con virus fijo, origen rabia parálitica de los bovinos, como los de virus fijos Pasteur, origen ca-

nino, han dado sueros de altos títulos con la técnica "a largo plazo". La sueroneutralización con los dos tipos de sueros se ha producido tanto con el virus homólogo como con el heterólogo. Esto quedó más evidenciado en las pruebas que sobre acción protectora de esos sueros realizamos en conejos, perros y ovinos (12).

La acción protectora se manifestó con caracteres y títulos comparables en las cuatro combinaciones usadas.

- 1º Suero antiparalítico v. virus fijo paralítico.
- 2º Suero antiparalítico v. virus fijo Pasteur.
- 3º Suero antivirius fijo Pasteur v. virus fijo paralítico.
- 4º Suero antivirius fijo Pasteur v. virus fijo Pasteur.

De modo que, la interacción entre estos dos tipos de virus y sus sueros en relaciones de neutralización in vitro con prueba ulterior in vivo y las de protección en inyecciones simultáneas de suero y virus prueban que estos dos tipos de virus rábicos son inmunológicamente similares. Fenómeno por otra parte y ampliamente probado en las pruebas de inmunidad cruzada con estos dos tipos de virus (4), que se creyeron distintos por los síntomas que producen en la infección natural.

Al respecto cabe emitir la hipótesis de que los síntomas paralíticos, especialmente en los bovinos, responden a la forma de inoculación por los vampiros contaminados trasmisores.

En efecto, Pasteur había demostrado experimentalmente que el virus rábico inyectado por vía endovenosa daba siempre rabia paralítica. (Obras completas de Pasteur, t. VI, págs. 576-77, cap. VII, págs. 580-82. Masson et Cie. Ed. 1933).

Los vampiros, con las heridas que producen en sus víctimas, las que manan abundante sangre y de las que se alimentan, ¿no enviarán el virus directamente a la circulación? De hecho, los dos virus dan, aún por hiperinmunización, anticuerpos similares. Los síntomas de rabia de los bovinos mordidos por perros rabiosos, son de rabia furiosa; mientras resultan de rabia paralítica, si esa trasmisión se realiza por mordeduras de vampiros infectados. Queda por aclarar experimentalmente ésta u otra hipótesis; pero los sueros logrados son inmunológicamente comparables, sea cualquiera de los antígenos el que lo haya originado.

A continuación sintetizamos los resultados de algunas experiencias sobre la acción protectora de estos sueros, inyectados por vía intrarraquídea en conejos, perros y ovinos, simultáneamente con virus fijo, en inyección intracerebral.

El suero en los conejos, fue dado por vía intrarraquídea, en dosis de 0,5 a 1 cc. y el virus intracerebral a la dosis de 0,3 cc. de suspensiones de cerebro del 1:100 al 1:250 conteniendo de 30 a 100 d. m.m. aproximadamente.

Los resultados obtenidos son:

Conejos testigos con virus solo	mueren 11/11
Conejos testigos, con virus y suero normal equino	mueren 6/7
Conejos con suero antirrábico y virus	sobreviven 18/33

o sea 54,5 % de sobrevivientes. De los 15 muertos sobre 33, la mayoría murió con retardo de dos a doce días en relación a sus testigos.

Resultados similares obtuvimos en perros y ovinos. En dos casos en ovinos y otros tantos en perros la supervivencia definitiva se obtuvo inyectado el suero 48 y 72 horas después del virus.

Para mayores datos remitimos a los interesados al trabajo original (12).

Los sueros obtenidos hasta el presente, fueron los que entregamos al Dr. Crivelari en el Laboratorio Pasteur de Buenos Aires, al Dr. H. González en el Hospital Muñiz, al Dr. Vilches, al Dr. Villa en el Instituto C. Malbrán para tratamiento de mordidos graves y en el año 1957 a los Dres. C. A. Bonetti Dupont y F. Cantarovich, médicos del Hospital Militar Central, para tratar accidentes post-vacunales. y al Dr. Ferro para la campaña antirrábica que dirige.

Aplicación en el hombre

Las aplicaciones tal como lo preconiza la O.M.S. en base a varios trabajos (2), fueron efectuadas en el Laboratorio Pasteur de Buenos Aires por disposición de su Director el Dr. Carlos Ramos Mejía.

A su pedido se ha incorporado el informe que comprende 19 casos de personas mordidas gravemente tratadas con suero y 24 horas después con vacuna desde el 25 de enero hasta el 10 de diciembre. Los casos tratados más recientemente no se consignan en este informe porque aun siguen en observación.

El interés especial de este informe está en que la mayoría de los casos tratados lleva el control positivo de los animales mordedores. Sólo mencionan siete casos de mordidos por perros desconocidos, presumiblemente rabiosos, lo que se dedujo por los datos obtenidos.

Una estadística mayor, que se irá haciendo con los datos que resul-

ten de las aplicaciones de suero en mordidos gravemente y que consignen los Institutos antirrábicos, permitirá dar conclusiones definitivas.

Para las aplicaciones tanto experimentales como en los tratamientos humanos, se han usado los sueros sin desalbumizar. En los controles que mencionamos como mediciones de título, van los realizados con esos mismos sueros desalbumizados por las técnicas del alcohol metílico y por sulfato de soda.

Si bien hay pérdidas de un alto porcentaje de anticuerpos, se logra la reducción del volumen, si así se desea y la supresión casi total de las albúminas que no llevan anticuerpos.

No obstante, con los sueros naturales no ha habido contratiempo en la aplicación humana ni en la experimental.

A continuación se detallan los 19 casos tratados por el Dr. C. Ramos Mejía.

PADULA, GUSTAVO. Mordido por un perro desconocido. — Edad: 3 años. Domicilio: Bulnes 510, Cap. — Mordido el día 25 de enero de 1957. 4 heridas en la cabeza y cara. Tratamiento especial. Los días 25 y 26 de enero se le aplican 18 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días; total de inyectado Vacuna Simple 60 cc. Total de suero hiperinmune 36 cc.

WALLCHEFF, JOERGE JUAN. Mordido por un perro desconocido. — Edad: 3 años. Domicilio: Díaz Vélez 3411. — Mordido el día 25 de enero. 3 heridas en la cabeza y cara. Tratamiento especial. Los días 25 y 26 de enero se le aplican 18 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Simple inyectada 60 cc.

CONTRERAS, JUAN CARLOS. — Mordido por un perro desconocido. — Edad: 3 años. Domicilio: Cangallo 1420. — Mordido el 5 de febrero. 2 heridas en la cabeza. Tratamiento especial. El día 5 de febrero se le aplica 15 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Simple inyectada 60 cc.

IACONE, AQUILES. — Mordido por un gato. R.F. 2883. Capturado en el Puerto de la Capital. — Edad 51 años. Domicilio M. Rodríguez 560, Cap. — Mordido el 1º de Mayo. 3 heridas directas en las manos y dedos, y 8 heridas directas en la pierna. Tratamiento especial. Se le aplica el día 21 de mayo, fecha en que termina el tratamiento 20 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Simple inyectada 120 cc.

NEGRETE, MÓNICA. Mordida por un perro. R. F. 3403. (Villa Ballester. — Edad: 2 años. Domicilio: Sarmiento 115 (Villa Ballester). — Mordida el día 23 de mayo. 5 heridas directas en la cabeza y cara. Tratamiento especial. El día 23 de mayo se le aplica 10 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Simple inyectada 60 cc.

LOPRUTI, JOSÉ FRANCISCO. Mordido por un perro. M. 379 (Webster Positivo). (Gral. Pacheco). — Edad: 1 ½ año. Domicilio: Avda. Gral. San Martín) s/n. (Gral. Pacheco). — Mordido el día 10 de junio. 2 heridas directas en la cara. Tratamiento especial. Se le aplica 10 cc. de suero hiperinmune el día 12 de junio. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Semple inyectada: 60 cc.

ABELLEYRO, ESTEBAN PABLO. Mordido por un perro. M. 466. (Webster Positivo). Ruta 8, Km. 22,500. — Edad: 20 años. Domicilio: Ruta 8, Km. 22,500. — Mordido el día 21 de julio. Una herida directa desgarrada en la mano. Tratamiento especial. Se le aplicó 42 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Semple inyectada: 120 cc.

PERUGINI, AMÉRICO. Mordido por un perro. Rabia Furiosa. N° 4785. (Boulogne). — Edad: 26 años. Domicilio: Uriarte 3423 (Boulogne). Mordido el día 5 de agosto. 2 heridas desgarradas en lado externo tobillo izquierdo. 3 heridas desgarradas y 1 linear pantorrilla derecha. 1 herida linear desgarrada antebrazo izquierdo. 2 erosiones índice mano izquierda. Tratamiento especial. Se le aplica 37 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días total de Vacuna Semple inyectada: 120 cc.

ONAINDIA, HILARIO. Mordido por un perro. Rabia Furiosa. N° 5041. Costa Rica 4560. Capital. — Edad: 37 años. Domicilio: Costa Rica 4560. — Mordido el día 20 de agosto. Una herida desgarrada (de gran superficie) en la base del pulgar mano derecha directa. El 21 se le aplica suero hiperinmune 5 cc. perifocal y 28 cc. intramuscular. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Semple inyectada: 120 cc.

AGUIRRE, DANIEL. Mordido por un perro desconocido. — Edad: 6 años. Domicilio: Lacarra 3700. Capital. — Mordido el día 23 de agosto. 1 herida lineal ligeramente desgarrada y perforante en hélix oreja izquierda, 1 herida lineal superficial directa en cara posterior hélix, 1 herida lineal desgarrada y perforante en surco retroauricular misma oreja. Tratamiento especial. Se le aplica 11 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Semple inyectada: 60 cc.

LAHARQUE, CARLOS A. Mordido por un perro. Muerto 537. (Webster Positivo). Ciudadela. — Edad: 27 años. Domicilio: Pueyrredón 1133 (Ciudadela). — Mordido el día 26 de agosto. 4 heridas perforantes directas que sangraron en cara anterior 1/3 medio antebrazo izquierdo. Tratamiento especial. 3 series. Una semana después de terminado el tratamiento, o sea el 24-IX, se le aplica suero hiperinmune 35 cc. 234 inyecciones en 21 días, total de Vacuna Semple inyectada: 120 cc.

MORALES, JULIO A. Mordido por un gato desconocido. — Edad: 51 años. Domicilio: Gaboto 1142. Cap. — Mordido el día 16 de setiembre. 2 heridas punzantes en dorso y cara externa pulgar mano derecha, 1 punzante y desgarrada en dorso pulgar mano derecha 2ª falange. Tratamiento especial. Se le aplica 40 cc. de suero hiperin-

mune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 120 cc.

BLUMETTI, ENRIQUE P. Mordido por un gato. N° 5727. (Webster Negativo). — Edad: 39 años. Domicilio: Dolores 87, Ramos Mejía. — Mordido el día 28 de setiembre. 5 heridas perforantes directas, que sangraron en base de pulgar mano izquierda borde externo, dorso y eminencia tenar. Tratamiento especial. Se le aplica 49 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 120 cc.

ARGOMEDO, ANÍBAL. Mordido por un perro desconocido. — Edad: 7 años. Domicilio: Rivadavia 2574. Cap. — Mordido el día 30 de setiembre. 2 heridas pequeñas, poco profundas, directas en región molar derecha, no sangraron. Tratamiento especial. Se le aplicó 10 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 60 cc.

BARTRA, ERNA DE. Mordida por un gato. N° M. 607. (Webster Positivo). — Edad: 59 años. Domicilio: Echeverría 2952. Cap. — Mordida el día 7 de octubre. 12 heridas directas desgarradas. 6 grandes y profundas en 1/3 inferior cara interna y posterior pierna izquierda. 5 lineales (arañazos) en la misma región. 1 desgarrada en 1ª falange dedo índice mano izquierda. Tratamiento especial. Se le aplica 30 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 120 cc.

FERRARI, DIANA MYRIAN. Mordida por un perro desconocido. Edad: 2 años. Domicilio: Benvenuto Cellini 640. Morón. — Mordida el día 7 de octubre. 3 heridas directas, grandes y desgarradas, que sangraron profusamente. 2 heridas en cuero cabelludo región parietal derecho de unos 5 a 8 cms. de longitud. 1 herida desgarrada profunda en región molar izquierda. Tratamiento especial. Se le aplica 7 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 60 cc.

ACORINI, ALBERTO. Mordido por un perro. N° 6229. Rabia Furiosa. — Edad: 48 años. Domicilio: Carapachay 69, Martín Coronado. — Mordido el día 21 de octubre. 3 heridas, 2 punzantes y otra tipo erosión pequeña, todas directas que sangraron, en dorso muñeca derecha. Se le aplica 30 cc. de suero hiperinmune intramuscular y 5 cc. perifocal. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 120 cc.

ESTEBAN, ALICIA E. Mordida por un perro. N° 7048. Rabia Furiosa. — Edad: 10 años. Domicilio: Castelli 201, Tigre. — Mordida el día 25 de noviembre. 8 heridas en la mano izquierda, anular, dedo meñique y base anular. Tratamiento especial. Se le aplica 18 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Simple inyectada: 60 cc.

GRETER, MIRTA G. Mordida por un gato. N° M. 716 (Webster Negativo). — Edad: 3 años. Domicilio: Pasaje Posta 4496. Cap. —

Mordida el día 10 de diciembre. 2 heridas punzantes directas en la mejilla izquierda con efusión de sangre. Tratamiento especial. Se le aplica 7 cc. de suero hiperinmune. 24 inyecciones en 12 días, total de Vacuna Semple inyectada: 60 cc.

Estos enfermos han terminado su tratamiento antirrábico y fueron controlados durante un mes sin presentar ninguna novedad digna de mención.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1º — Los sueros antirrábicos obtenidos con la técnica a largo plazo han dado en la repetición, en 20 nuevos equinos suero productores, los mismos buenos resultados anunciados en el trabajo presentado en el Vº Congreso Internacional de Microbiología en 1950, por Pedro J. Schang, J. A. Rodríguez Loustau y H. R. Rizzo.

2º — El intervalo de hiperinmunización alargado a 1, 2 ó 3 años sin inyecciones intermedias de antígeno, virus fijo modificado o no, ha permitido obtener, sin perjudicar el estado de los equinos suero productores, sueros de muy alto título neutralizante y protector.

3º — Estos títulos fueron muy superiores al usar como antígeno a muy largo plazo, virus sin atenuar. Se obtuvieron así sueros que protegieron contra 200.000 D.L. 50. Faltaría realizar un control comparado con el suero patrón de la O.M.S., que no pudimos obtener hasta el presente.

4º — Queda abierto un amplio campo experimental, ya que en las experiencias realizadas se han logrado salvar definitivamente, conejos, ovinos y caninos dándoles suero por vía intrarraquídea y virus por vía intracerebral, simultáneamente y aún con suero dado 48 y 72 horas después del virus.

5º — Hasta ahora los sueros se comportaron muy satisfactoriamente cuando se aplicaron en casos de mordeduras graves en la prevención de la rabia humana. Los autores presentan los 19 casos tratados en el Laboratorio Pasteur de Buenos Aires, por su director el Dr. Carlos Ramos Mejía, desde enero a diciembre de 1957, sin ningún fracaso.

Una experimentación y aplicación más prolongada dirán si, correspondiendo a los altos títulos de suero, hay un resultado preventivo proporcional.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Anti-Rabies Serums of high titer. I.

Preparation, titration, experimental application, and in human medicine.

1) *The good results announced in the V International Congress of Microbiology about the obtention of hyperimmune serum with the*

"booster dose" technique had been repited successfully in 20 new horses.

2) The time interval between the hyperimmunizing injection carried to, 1, 2 or 3 years using inactivated or not, fixed virus as antigen, has conducted to the obtention of highly neutralizing and protective serums without any damage to the seroproducer horses.

3) The titers had been highest when active virus and at a very long time interval was used. Serums protecting against 200.000 DL50 had been obtained. Infortunately it had been impossible to do the comparative test with the OMS's standard serum.

4) An interesting field is open on the basis that in the experiments performed has been possible to save deffinitly rabbits, sheep and dogs infected intracerebrally with fixed virus by means of the application of serum by intraraquideal route. The administration of the serum had been in some cases simultaneous and in others 48 and 72 hours after the virus.

5) Serum had been aplyed satisfactorily in prevention of human rabies after severe exposure by rabid dogs. The authors cited 19 cases treated without fails by Dr. C. Ramos Mejía in the Pasteur Institute of Buenos Aires from january to december of 1957.

A prolonged experimentation and application, will established the relation between the titers of the serum and its protective power.

RESUMÉ ET CONCLUSIONS

Sérums contre la rage d'un titre élevé. I.

Préparation, titrage, application expérimentale, et en médecine humaine.

1^o — Les auteurs ont obtenu dans une nouvelle série de 20 chevaux hiperimmunisés avec la technique "a long delai" les mêmes bons résultats que les Dres. Schang P. J., Rodríguez Loustau J. A. et Rizzo H. avaié obtenu avec la même technique, présentée aut Vème Congrès International de Microbiologie à Río de Janeiro - Quitandinha en 1950.

2^o — Eloignant l'intervale d'hiperimmunisation à 1, 2 et 3 ans, sans aucune dose d'antigène rabique dans ce temps la, et faisant la surcharge avec du virus rabique modifié ou naturel ils ont obtenu des serums de très haut tittre neutralisant et protecteur.

3^o — Les tittres furent evidement plus hauts en utilisant comme antigène à très long delai du virus fixe sans attenuation. Ils obtinrent ainsi des sérums qui ont protegé contre 200.000 D.L. 50 pour la souris injectée par voie intracranéale.

L'impossibilité d'obtenir le sérum de la O.M.S. n'a pas permis de faire la contrôle comparatif avec ce sérum.

4º — Dans des expériences réalisées, des lapins, des chiens et des moutons injectés par voie intrarachiennne avec se sérum et du virus fixe intracerebral simultanément, et même avec du sérum injecté 48 et 72 heures après le virus, ont survécu définitivement. S'ouvre ainsi un champ expérimental très ample.

5º — Sur 19 cas d'hommes mordus gravement par des chiens et des chats enrégées, traités avec ce sérum au Laboratoire Pasteur de la Comune de Buenos Aires, par son Directeur le Dr. Carlos Ramos Mejía, il n'y en a eu aucun échec.

Les auteurs concluent qu'une expérimentation plus ample permettra de dire s'il y a des résultats proportionnels entre les hauts titres des sérums et leur pouvoirs preventifs.

BIBLIOGRAFIA

1. BABES et LEPP (1889): Recherches sur la vaccination antirabique. Ann. Inst. Past., (3):384-390.
2. BALTAZARD, M. y BAHMANYAR, M. (1957): Ensayo del suero antirrábico en las personas mordidas por lobos rabiosos. Bol. Of. San. Panam., XLII. (4):337-353.
3. FERMI, C. (1909): Comparaison entre le pouvoir lyssicide et immunisant du serum antirabique de differents animaux et de differents instituts. Centr. f. Bakt. Paras. u. Inf. Krank., LII, :576-586.
4. GRILLO TORRADO, J. M. y GIACOSA DE CRESCINI, A. M. (1957): Contribución al estudio inmunológico comparado entre los virus fijo de rabia Pasteur y Paralítica. Rev. de Inv. Ganad. Nº 3.
5. HABEL, K. (1954): Seroprophylaxis in rabies. The North. Am. Vet., VII, (26):398.
6. KODRNJA, E. (1954): Recherches experimentales sur le sérum antirabique. Off. Int. des Epizooties XLII :122-153.
7. MARIE, A. (1905): Recherches sur le sérum antirabique. Ann. Inst. Past. XIX. :1-8.
8. (1908): Recherches sur le sérum antirabique. II. Ann. Inst. Pasteur, XXII, :271-288.
9. PROCA, G., BABES, S. et JONESCO, D. (1934): Sur la serotherapie preventive de la rage. C. R. Soc. Biol, CXV, :1001-1003.
10. (1937): Serotherapie de la rage. Bull. Acad. Med. Roum. IV, :609-617.
11. SCHANG, P. J., RODRÍGUEZ LOUSTAU, J. A. y RIZZO, H. R. (1951): Preparación de suero antirrábico con virus de rabia paralítica de los bovinos. Rev. Fac. Agr. Vet., Buenos Aires, XIII, entr., I.
12. SCHANG, P. J. (1957): Acción protectora del suero antirrábico por vía antirráquidea. Gac. Vet., XIX. (109):203-208.
13. TIZZONI y CENTANNI (1895): Atti della Reale Academia delle Scienze di Bologna. Febrero.