



Virus rábico fijo procedente del virus dominante en Montevideo

PROCESO DE LA MUTACION Y SU ESTADO EVOLUTIVO ACTUAL

por C. Freire Muñoz

Datan de algo más de diez años nuestras primeras exploraciones dirigidas a la obtención de un virus fijo partiendo del virus responsable de la rabia dominante en nuestro medio. Esas primeras tentativas fueron infructuosas, ya que no permitían descubrir en las cepas ensayadas los signos precursores de una evolución favorable para la finalidad perseguida. Casi sistemáticamente veníamos sometiendo a pasajes cerebrales por el conejo a los virus procedentes de diversas especies de animales, como también de la especie humana, en cierta oportunidad. En la generalidad de los casos dábamos por finalizada esta exploración orientadora cuando cumplido el 5.º pasaje no se notaban cambios favorables de virulencia, llegándose a ese desenlace negativo con las cepas aisladas de cinco perros, dos gatos, un mular, un bovino y de una niña, el virus "G. E." a que hicimos referencia en un trabajo anterior (1).

El virus apto logramos obtenerlo de los centros nerviosos de un bovino muerto de rabia el 30 de marzo de 1937. Se trataba de un ternero de un año de edad, cuyos primeros síntomas de rabia fueron observados siete días antes. Hizo una rabia furiosa típica. La investigación de corpúsculos de Negri al nivel de las células ganglionares del Cuerno de Ammon, permitieron comprobarlos abundantes y característicos incluidos en la generalidad de las células observadas. Este animal había sufrido severas mordeduras en la cara y un garrón, del perro rabioso registrado en el Instituto Antirrábico con el número 7.248. Mordido con fecha 23 de enero, fué sometido a vacunación tres días más tarde, habiendo recibido 22 c.c. de vacuna fenicada, tipo Umeno y Doi. La misma dosis fué repe-

(1) C. Freire Muñoz. "LA ACCION DE LA VACUNA ANTIRRABICA, CONSIDERADA BAJO DISTINTOS ASPECTOS, EN SU APLICACION PRACTICA Y EXPERIMENTAL". — Anales de la Facultad de Veterinaria. 3.ª ép. Nos. 2-3. Dic. 1937, pág. 212.

tida con fechas 2 y 6 de febrero. La vacuna era de reciente preparación, correspondiendo a las series Nos. 90, 91 y 92 respectivamente. Contrariamente a los buenos resultados obtenidos hasta entonces con la aplicación de la vacuna a los animales de la especie bovina mordidos por perros atacados de rabia comprobada, en este caso la vacuna fué de una acción absolutamente nula, no obstante una iniciación oportuna del tratamiento, el que no se creyó del caso practicarlo con mayor intensidad dado que en situaciones anteriores rigurosamente análogas se había mostrado eficiente. La enfermedad de este ternero se inició hacia los dos meses de la fecha de mordido y evolucionó en el término de 7 a 8 días.

Pese a que la falta de protección por la vacuna podía ser atribuida a la gravedad de las mordeduras, sobre todo a las de la cara, decidimos estudiar el virus principalmente desde el punto de vista inmunológico. Al efecto el mismo día de la muerte del ternero (30 III 37) se inocularon, por vía cerebral, dos conejos cuyos pesos fluctuaban alrededor de los 2 kilogramos. Se empleó una emulsión de cuerno de Ammon al 1:100 en solución fisiológica. Igualmente son inoculados ocho perros de pequeña talla, de peso inferior a 6 kilogramos, con diluciones a 1:100 y 1:500, en los músculos del muslo. De estos ocho perros, cuatro se hallaban vacunados desde dos meses antes, perteneciendo a un lote destinado al control periódico de la vacuna. Los cuatro perros restantes se tomaron como testigos. Además, a dos de los perros vacunados se les complementó la vacunación, como en pruebas análogas anteriores, inoculándoles al día siguiente de recibir el virus una nueva dosis de vacuna. El cuadro N.º 1 permite una lectura sinóptica de la experiencia y su desenlace.

El resultado de esta experiencia no ha podido ser más nítido, dejando entrever una estrecha homología inmunológica del virus originario del bovino mencionado (virus que seguiremos denominando "B 23") con el virus antígeno (virus fijo "Argentina"). No obstante, consideramos de interés la realización de una prueba de inmunidad cruzada para cuyo fin intentamos, simultáneamente con la iniciación de la experiencia que acabamos de examinar, someter al proceso de la fijación el virus "B.23"). Aquella primera inoculación en el cerebro del conejo dió por resultado una incubación de 14 días y muerte dos días después con una evolución exclusivamente paralítica. Ambos conejos se comportaron en forma casi idéntica. El segundo pasaje efectuado partiendo del bulbo fresco del conejo muerto en primer término, nos proporcionó la sorpresa de un notable descenso en el período de incubación, ya que a los once días se observaron las primeras manifestaciones paralíticas de uno de los conejos, habiéndolo hecho el segundo con doce horas de retardo. Cabe hacer notar que el virus original era fuertemente negrígeno, tanto en su origen inmediato (bovino N.º 23) como en el mediato (perro mordedor N.º 7.248. Continuó mostrándose negrígeno, aunque discretamente, en estos dos primeros pasajes por el conejo, para decaer esta propiedad hacia el 3er. pasaje, donde sólo se registran escasos corpúsculos débil-

CUADRO N.º 1

AÑO 1937

Núm. del perro	Fecha de vacunación	Serie de vacuna	Dosis vacuna c.c.	Fecha inoc. virus	Título diluc. virus	Dosis virus c.c.	Inicia enfermedad	Muerte	Observaciones	
C-86	29/I	91	5	30/III/37	10 ⁻²	2	—	—	Retirado exp.: 25/III/38.	
C-87	29/I	91/93	5-5		"	"	—	—	" "	
	31/III									
C-88	31/III	91/93	5-5		5 × 10 ⁻²	"	—	—	" "	" "
C-89	29/I	91	5		"	"	—	—	" "	" "
T-1	—	—	—		"	"	—	—	—	" "
T-2	—	—	—		"	"	2/V	5/V	5/V	Rabia muda. Abundantes C. N.
T-3	—	—	—		10 ⁻²	"	2/V	4/5/V	4/5/V	Rabia fur. Abundantes C. N.
T-4	—	—	—	"	"	28/IV	1/V	1/V	" " " "	

mente teñidos, aunque revelándose bajo su forma y dimensiones características. Hacia el 4.º pasaje, que se cumplió sobre un solo conejo debido a la muerte accidental del compañero al día siguiente de la inoculación, se registran, junto a una reducción del período de incubación a diez días, escasísimos corpúsculos, sumamente pequeños, podría decirse rudimentarios. A partir del 5.º pasaje, en que la incubación desciende a nueve días, ya no es posible comprobar inclusiones en las células ganglionares del Cuerno de Ammon, a cuyo nivel siempre veníamos efectuando la investigación. Nos hallábamos, sin duda, frente a un virus dotado de una notable aptitud para la fijación y así lo hacíamos notar en un trabajo anterior publicado a fines de 1937 (loc. cit.), donde al referirnos a ello anunciábamos tratarlo en un próximo trabajo. Han transcurrido ahora nueve años desde el primer pasaje y durante este largo período de tiempo hemos llegado a totalizar 200 pasajes. Para cada pasaje siempre utilizamos dos conejos cuyo peso generalmente ha oscilado alrededor de los 2 kgrs.; en su gran mayoría esos conejos eran de raza rusa o mestizos. Como material de inoculación se utilizó el bulbo del conejo muerto en primer término, aunque durante el tiempo caluroso hemos preferido, por razones obvias, sacrificar el conejo cuya parálisis se hallaba más avanzada, estando muy próximo a la muerte. En el período de nueve meses correspondiente al año 1937 (1), realizamos 19 pasajes, utilizando el bulbo fresco de reciente extracción, conservando un trocito en medio Bedson para una posible eventualidad. La incubación ha bajado a ocho días a partir del 12.º pasaje, mostrando tendencia a descender a siete días en los 18.º y 19.º, para luego alternar con ocho días en los cuatro pasajes siguientes, que ya corresponden al año 1938. Durante este año se realizan 22 pasajes, del 20.º al 42.º, siendo a partir del 25.º que tiende a estabilizarse el período de siete días. En 1939 se efectúan también 22 nuevos pasajes, del 43.º al 65.º, manteniéndose con firmeza el período de siete días. Durante los años siguientes, este período permanece incambiado, salvo aisladas alternativas de orden accidental. Algunos pasajes fueron efectuados con el virus conservado varios días, utilizando como líquido conservador ya sea el medio Bedson o simplemente la glicerina al 50 % en solución fisiológica llevada a pH 7,2; siempre a baja temperatura, no superior a 5° C. Ultimamente hemos venido utilizando temperaturas de congelación.

Por el resumen expuesto puede apreciarse en la evolución de este virus dos fases bien distintas: la primera comprendida en los primeros 25 pasajes, período que señala una rápida evolución en su actividad siempre creciente a través de incubaciones cada vez más breves hasta llegar a siete días. Luego entramos en la segunda fase, que comprende ya 173 pasajes, señalando un período tan lentamente evolutivo, que permite considerarlo como estacionario. La primera de estas fases se ha cumplido

(1) Al final se hallan los cuadros correspondientes al protocolo de cada año.

en un año, y en los ocho años siguientes ya no se han operado nuevas modificaciones de ese orden.

Aunque sabemos del poco o ningún paralelismo en los procesos de fijación de las distintas cepas de virus de calle, no obstante la igualdad de características en su acción natural, cabe recordar la evolución de la cepa más famosa en la historia de la rabia, con la que Pasteur realizara la creación del "virus fijo". También de origen inmediato bovino, el primer pasaje cerebral por el conejo acusó una incubación de 17/18 días y luego evolucionó en forma que podría llamarse vertiginosa, para detenerse en una incubación de ocho días al cumplir tan sólo 21 pasajes sucesivos. Este período de 8 días permaneció estacionario durante 50 pasajes más, para enseguida descender a siete días. Durante este nuevo período que comprende alrededor de cien nuevos pasajes, se registra la primera inoculación a la especie humana (133.), quedando así el nombre de **Joseh Meister** definitivamente vinculado a uno de los acontecimientos más trascendentales registrados en la historia de la ciencia. Como se vé, en la evolución de este virus clásico se puede establecer tres períodos bien definidos hasta el momento en que su número de pasajes cerebrales por el conejo correspondía bastante aproximadamente al que cuenta nuestro virus en la actualidad. El período caracterizado por ocho días de incubación que permanece durante 50 pasajes en el proceso del virus Pasteur, sólo resultó de fugaz transición entre las dos grandes fases señaladas en la evolución de nuestro virus. Es la diferencia fundamental registrada en las etapas cumplidas por ambos procesos dentro de un determinado número de pasajes.

En lo referente a la evolución de la enfermedad en el conejo, nuestro virus siempre ha respondido a una misma modalidad, mostrándose **invariablemente paralítico**; parálisis gradualmente progresiva, iniciándose generalmente por los miembros posteriores con tendencia a la generalización dentro de las 48 horas, permaneciendo los animales en estado de coma y flácidos durante las 24 horas, más o menos, que preceden al deceso.

TITULACION DEL VIRUS "B.23" EN DISTINTOS MOMENTOS DE SU EVOLUCION. — ACCION DE LAS DILUCIONES. — Hemos medido la actividad del virus "B.23" en dos momentos distintos de su evolución, a los 70 y a los 196 pasajes, por el método de las diluciones. Hemos resumido en los cuadros siguientes, Nos. 2 y 3, todo lo relacionado con ambas pruebas para facilitar la apreciación y comparación de los resultados.

Estas pruebas permiten establecer que el virus "B.23" en el momento actual, con 196 pasajes, se ha mostrado activo una vez sobre dos en la dilución 1:20.000 y todavía una vez sobre cuatro en la dilución 1:30.000. A 1:40.000 se ha mostrado inactivo frente a la totalidad de los conejos inoculados.

Comparando los resultados de ambas experiencias comprobamos un sensible acrecimiento de actividad en función de 126 nuevos pasajes, ya

REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

CUADRO N.º 2
TITULACION DEL VIRUS "B.23" DE 70.º PASAJE

Fecha	Núm. del conejo	Peso	Título de dilución	Inicia parálisis	Muere	Observaciones
28/II/40	45	1.850	10 ⁻²	6/III/40	9/III/40	Mielencéfalo se retira para vacuna.
	46	2.040	"	6/III/40	9/III/40	Se retira a los 3 meses.
	47	2.100	5×10 ⁻³	—	—	
	48	1.900	"	—	—	" " " " " "
	49	1.950	"	—	—	" " " " " "
	50	2.080	"	11/III/40	16/III/40	Se retira a los 3 meses.
	51	1.800	10 ⁻¹	—	—	
	52	2.050	"	—	—	" " " " " "
	53	1.970	"	—	—	" " " " " "
	54	2.010	"	—	—	" " " " " "

CUADRO N.º 3
TITULACION DEL VIRUS "B.23" DE 196.º PASAJE

Fecha	Núm. del conejo	Peso grs.	Título de dilución	Inicia parálisis	Muere	Observaciones	
						Incubación	Enfermo
22/I/46	1343	1800	10 ⁻³	29/I/46	2/II/46	7 días	4 días
	1344	1900	"	30/I/46	4/II/46	8 "	5 "
	1345	1900	5×10 ⁻³	1-2/II/46	6-7/II/46	10/11 "	5/6 "
	1346	2010	"	1/II/46	6/II/46	10 "	5 "
	1347	2030	10 ⁻¹	1/II/46	6-7/II/46	10 "	5/6 "
	1348	1970	"	31-1/II	6-7/II/46	9/10 "	6/7 "
	1349	1970	2×10 ⁻¹	1-2/II/46	6-7/II/46	10/11 "	5 "
	1350	1850	"	—	—	—	—
	8/II/46	1353	1910	3×10 ⁻¹	20-21/II	25/26/II	12/13 días
1354		1710	"	—	—	Sobrevive	"
1355		1700	"	—	—	"	"
1356		1640	"	—	—	"	"
1357		1830	4×10 ⁻¹	—	—	"	"
1358		1650	"	—	—	"	"
1359		1900	"	—	—	"	"
1360		1970	"	—	—	"	"

que en su 70.º pasaje apenas se mostró activo una vez sobre cuatro en dilución a 1:5.000.

Deseamos insistir ahora sobre una particularidad que solamente nos habíamos limitado a señalar en otra oportunidad, al considerar la acción de las diluciones estudiando el virus "Argentina" (1). Se refiere a la influencia ejercida por la dilución sobre los períodos de incubación. Ya habíamos notado entonces una relación directa entre las diluciones más extendidas con aquellos períodos más alargados y destacábamos hallarnos frente a un hecho controvertido, donde eminentes investigadores sostenían maneras de ver extremadamente opuestas. NITCH por su lado, como también REMLINGER, PALMOWITCH y BAILLY (2), han deducido de sus experiencias que no existe ningún retardo proporcional al grado de dilución. FERMI, a su vez, ha sostenido precisamente lo contrario al observar que las diluciones **muy extendidas** de virus, provocan un retardo de duración en la incubación que sería proporcional al grado de la dilución. Agreguemos que igual observación ya había realizado HOEGYES —contemporáneo de Pasteur— en el año 1889 (3). Nuestras primeras observaciones al respecto, publicadas al referirnos al estudio del virus "Argentina" (loc. cit.), venían en apoyo de las comprobaciones de FERMI, aunque no bajo forma de expresión matemática, ya que la proporcionalidad a que hace referencia dicho autor de retardos en relación directa con los títulos de dilución, no se produjeron para diluciones a 1:100.000 y 1:200.000, en que el período de incubación resultó sensiblemente igual para ambas. Estos últimos resultados obtenidos con las diluciones de nuestro virus "B.23", nos ofrecen un nuevo e importante elemento de juicio para formar criterio acerca de ese punto, puesto que permite apreciar la misma particularidad con las mismas características frente a un virus de origen y actividad muy distintos de aquél. Tanto dentro de su actividad al 70.º pasaje, como a los 196, cuyas máximas se registran en diluciones a 1:5.000 y 1:30.000 respectivamente, se pudo comprobar un sensible retardo de incubación con respecto a la acción de las emulsiones concentradas o moderadamente diluidas. En las experiencias de más reciente data, se puede observar que tres grados distintos de dilución, 1:5.000, 1:10.000 y 1:20.000, se han comportado casi exactamente igual en los retardos de incubación, representados entre tres y cuatro días con respecto a lo normal. La actividad del virus que estudiamos también fué efectiva a 1:30.000 una vez sobre cuatro, pero acentuando aquel retardo registrado para las diluciones antes mencionadas en dos días más. Aquí nos hallamos más próximo aún de las afirmaciones de FERMI. Descartando este caso, que por presentarse aislado en el conjunto de nuestras experiencias no debemos atribuirle mayor significación, surge

(1) C. Freire Muñoz. Anales de la Fac. de Vet. Nos. 2-3. Dic. 1937, pág. 197.

(2) Remlinger, Palmowitch y Bailly. Comp. R. de la S. de Biol. 1931, pág. 107.

(3) M. A. Hoegyes. Vaccinations contre la rage. Ann. Inst. Pasteur. 9 1889 pág. 449.

claramente como resultado de todas ellas una evidente relación entre el retardo del período de incubación con el estado a que ha sido llevado el virus por la dilución, observándose mayor sensibilidad y regularidad para las diluciones más extendidas dentro de la zona de actividad de cada virus o de su momento evolutivo, sin que ello acuse proporcionalidad con los distintos grados de dilución. No creemos, sin embargo, que estos períodos de incubación, más o menos alargados, consecutivos a una dilución del virus, autorice a considerar esta acción como factor de atenuación, tal como se expone en varios tratados clásicos. Estos resultados más bien sugieren la idea acerca de un *mínimum* de unidades infectantes, dentro de cuyos límites se cumpliría la infección al plazo fijo que caracteriza el momento evolutivo de cada virus. Desbordado ese límite —caso de las diluciones extendidas— la acción infectante se muestra retardada por la actividad de una defensa orgánica a la que un número relativamente débil de elementos infectantes no pudo anular de golpe. Nos encontramos así en una zona de transición, donde la lucha entre el organismo y el virus puede definirse a favor de cualquiera de los antagonistas, quedando como testimonio de esa lucha, sea un estado de *infección retardada*, sea, en algunos casos, un estado de *inmunidad*, lo que viene a documentar la presencia del virus en aquellos títulos de dilución sub-infectantes. No ha sido otro el fundamento de HCEYGES al crear el método de las diluciones para el tratamiento antirrábico, quien declara haber encontrado los elementos de su método en los trabajos de Pasteur, el que a raíz de algunas experiencias de vacunación había emitido la idea que la desecación de las médulas disminuía no la virulencia, sino la cantidad del virus.

SENSIBILIDAD DEL CONEJO A LA ACCION DEL VIRUS "B.23" INOCULADO POR DISTINTAS VIAS. — Con virus de 96.º pasaje inoculamos un lote de diez conejos: dos en la cámara anterior del ojo; cuatro en los músculos de la nuca y otros cuatro bajo la piel del abdomen. Una prueba análoga realizamos cuando el virus había cumplido cien pasajes más, es decir, a los 196 pasajes, inoculando también en este caso, perros y lauchas suizas. Los cuadros Nos. 4 y 5 registran la experiencia y sus resultados, pudiéndose apreciar que el virus "B.23" se mostró activo con rigurosa regularidad para el conejo inoculado bajo la piel del abdomen y en los músculos de la nuca, partiendo de una emulsión espesa de bulbo conservado entre 2 y 5 días en medio Bedson al frío. En ambos casos los períodos de incubación denuncian la acción de un virus de actividad exaltada con respecto a la virulencia de las cepas de calle cuando son inoculadas por esas mismas vías, notándose mayor brevedad y regularidad de ese período luego de cumplidos los cien nuevos pasajes (196 en total).

C U A D R O N . " 4
VIRUS "B.23" DE 96." PASAJE

Fecha	Señal Conejo	Vía Inoculac.	Inicia Parálisis	Muerte	Observaciones	
					Incubación	Enfermo
25/III/41	L-1	i/ocul.	2/IV/41	5/IV/41	8 días	3 días
	L-2	"	4/IV/41	7/8/IV	10 "	3/4 "
	N-1	i/musc.	2/IV/41	6/7/IV	8 "	4/5 "
	N-2	"	3/IV/41	6/7/IV	9 "	3/4 "
	N-3	"	5/IV/41	8/IV	11 "	3 "
	N-4	"	5/IV/41	7/IV	11 "	2 "
	Sc-1	s/cut.	6/IV/41	8/IV	12 "	2 "
	Sc-2	"	5/IV/41	8/IV	11 "	3 "
	Sc-3	"	7/IV/41	9/10/IV	13 "	2/3 "
	Sc-4	"	6/IV/41	8/9/IV	12 "	2/3 "

C U A D R O N . " 5
VIRUS "B.23" DE 196." PASAJE

Fecha	Señal Conejo	Vía Inoculación	Inicia Parálisis	Muerte	Observaciones	
					Incubación	Enfermo
19/I/46	G	i/ocul.	27/28/I	30/31/I	8/9 "	3 días
	N	"	27/28/I	31/1/II	8/9 "	4 "
	M-1	i/musc.	27/28/I	1/2/II	8/9 "	5 "
	M-2	"	27/28/I	1/2/II	8/9 "	5 "
	B-1	s/cut.	28/29/I	1/2/II	9/10 "	4 "
	B-2	"	30/31/I	2/3/II	11/12 días	3 "
	Perro					
19/I/46	O/A	s/cut.	—	—	Sobrevive	
	O/N	"	—	—	"	
	N/M	i/musc.	10/11/II	13/14/II	22/23 días	3 días
	B/N	"	12/II	15/II	24 "	3 "
	Laucha					
19/I/46	S/M	i/caud.	29/1/46	30/31/I	10 días	1/2 días
	A/L	"	27/I	28/29/I	8 "	1/2 "
	A/C	"	29/I	30/I	10 "	1 "
	A/B	"	27/I	28/29/I	8 "	1/2 "

Ahora bien, si consideramos que los virus fuertemente adaptados al conejo —caso del virus "Argentina"—, se manifiestan esencialmente encefalótrofos, el resultado de estas experiencias sugiere la creencia de un período previo de exaltación para la especie, cualquiera sea la vía de inoculación, incluso aquellas que normalmente ofrecen terreno poco adecuado para que prospere la infección rábica. Es de señalar que puede concedérsele importancia práctica a esa manifestación toda vez que la finalidad fundamental de la obtención de un virus fijo persigue un destino antigénico. Ello puede llegar a explicar, en algunos casos, el motivo de accidentes vinculados al tratamiento basado en el empleo de virus fijos que aún no han perdido su neurotropismo periférico. ¿En qué momento un virus fijo adquiere el carácter esencialmente encefalótropo? Los distintos investigadores que han seguido paso a paso la transformación de distintas cepas, no han abordado ese punto. Los resultados de nuestras pruebas sólo permiten establecer que el virus "B.23" aún no había adquirido la mencionada propiedad frente al conejo, en su 196.º pasaje y que, en cambio, ya la poseía para esa especie el virus "Argentina" en oportunidad de nuestros ensayos, partiendo del pasaje N.º 1.779 efectuados y publicados en 1937 (loc. cit.) Como luego veremos, todo induce a pensar que la calidad de firme encefalotropismo no represente la condición indispensable para una eficiente acción antigénica, aunque para los fines de orden práctico deba exigirse la concurrencia de ambas propiedades.

PREPARACION DE VACUNA PARTIENDO DEL VIRUS "B.23". —

Con los mielencéfalos extraídos de los conejos Nos. 45 y 46 correspondientes al 71.º pasaje, se preparó una partida de vacuna de acuerdo con los principios y técnica de Umeno y Doi, ajustándonos a la práctica seguida desde tiempo atrás referida en trabajos anteriores (1). Esta partida de vacuna la denominamos "B.23/1", siendo aplicada a cuatro perros comparativamente con la empleada en otros cuatro perros destinados al control periódico de la vacuna corrientemente preparada partiendo del virus "Argentina" empleado por el Instituto Antirrábico. El cuadro siguiente, N.º 6, informa sobre esta experiencia:

El resultado de esta experiencia demuestra que el virus "B. 23" a los 71º pasajes, ya se hallaba en un momento evolutivo suficientemente adecuado para evidenciar tanto su inocuidad como su eficiencia antigénica **luego de sufrir la influencia de los distintos factores de atenuación que actúan en el complejo vacunal**, no permitiendo apreciar diferencias inmediatas con la acción desarrollada a este respecto por complejos de este tipo en función de virus clásicos. Esta experiencia, además, tiene todo el significado de una prueba de inmunidad cruzada si nos retrotrae-

(1) C. Freire Muñoz. An. de la Esc. Vet. del Uruguay. Año I, N.º 12. Dic. 1929, pág. 457.

CUADRO N.º 6

Fechas de:		Núm. Perro	Peso Kgrs.	Dosis cc.		Vacuna Empleada	Observaciones
Vacunación	In. Virus			Vacuna	Virus		
29/III/40	30 - IV - 40	58(M)	7 ¼	5	2.5	B. 23/1	† 5/VI/40. Negativo rabia (1).
29/III/40		59(M)	6.75	5	"	"	Retirados de experiencia a los 6 meses de recibir el virus.
29/III/40		60(H)	3.75	5 + 5	"	"	
30/IV/40		61(H)	5.00	5 + 5	"	"	
29/III/40							
30/IV/40							
29/III/40	30 - IV - 40	62(M)	8.00	5	"	Se. 149	Retirados de experiencia a los 6 meses de la prueba de virus. † 28/VIII/40. Bronconeumonía. Retirado a 6 meses virus.
29/III/40		63(M)	7.5	5	"	"	
29/III/40		64(H)	4.25	5 + 5	"	149/150	
30/IV/40		65(H)	5.5	5 + 5	"	"	
29/III/40							
30/IV/40							
Testigo	30-IV-40	66(H)	6,5	—	"	—	Sacrificado: 1/XI/40.
Testigo		67(M)	7,25	—	"	—	† 2/5/10. Rabia furiosa. corp. de Negri típicos.

NOTA: El virus de calle fué inoculado en los músculos del muslo y provenía del perro N.º 15.013 (Inst. Antirrábico), muerto de rabia el día 26/II/40; había sufrido un pasaje por el conejo luego de conservado 15 días en medio Bedson al frío. Produjo las primeras manifestaciones paralticas al conejo en 16 días y la muerte entre 18/19 días, siendo francamente negrofeno.

(1) — Este perro había mostrado decaimiento general y rigidez en las extremidades un día antes de la muerte.

Ausencia de Corps. de Negri en el C. de Ammon.
NECROPSIA: Gastro-enteritis aguda hemorrágica. Pelota de pelos en el estómago. Hiperemia pulmonar aguda. Riñones hiperemiados.
INOCULACIONES: Con emulsión de C. de Ammon en sol. fisiológica se inoculan dos conejos por vía cerebral, los que fueron retirados de experiencia pasados los tres meses de observación.

mos a la efectuada con el virus "B 23" en oportunidad de su aislamiento. (Pág. 3).

Puede sorprender, sin embargo, esta similitud de propiedades vacunales entre virus de actividad tan distinta en la base de estas vacunas. En efecto, mientras el virus "B. 23" a su 70° pasaje apenas se mostró activo una vez sobre cuatro en la dilución 1:5.000, mostrándose completamente inactivo a 1:10.000, el virus "Argentina", base de la vacuna que sirvió de término de comparación, titulado por nosotros en su 1.902° pasaje (año 1937, *loc. cit.*), había acusado una actividad cien veces mayor que aquel. Parecería que el virus modificado, hubiera adquirido ya desde sus primeras manifestaciones de fijeza, una característica antigénica estable que, en todo caso, resultaría utilizable para la caracterización de su nuevo estado, concurriendo fundamentalmente, junto con otros signos de distinta naturaleza, a darnos la pauta para apreciar con cierta justeza aquel momento del proceso en que se establece la mutación.

Subsisten, sin embargo, en este período del proceso de transformación, algunas características que indican diferencias apreciables en la fisonomía biológica de ambos virus. En efecto, mientras el virus "Argentina" se mostró inactivo para el conejo inoculado por vías subcutánea y muscular en pruebas realizadas cuando llevaba 1.779 pasajes, lo que demuestra su firme desadaptación para los tejidos periféricos aún en la propia especie de su fijación, el virus "B. 23" se ha comportado de manera muy distinta, según puede apreciarse a la lectura de los cuadros N.os 4 y 5 referentes a dos momentos distintos del proceso de transformación, a los 96 y 196 pasajes. Esta propiedad la juzgamos de toda entidad, como para justificar el rasgo fisonómico fundamental de un virus fijo.

ACCION DEL VIRUS "B. 23" INOCULADO POR VIAS DISTINTAS DE LA CEREBRAL

Examinando la sinopsis de los cuadros N.os 4 y 5, hallamos todos los elementos que permiten establecer el grado de sensibilidad del perro, conejo y lauchas suizas a la acción del virus "B. 23" de 96 y 196° pasajes inoculado por distintas vías con exclusión de la cerebral. Podemos así apreciar un período de incubación sensiblemente igual en el conejo inoculado en la cámara anterior del ojo y en los músculos de la nuca, notándose una diferencia en la evolución de la enfermedad, más breve para la primera de estas vías (1 a 2 días de diferencia). El conejo también se ha mostrado francamente receptivo por vía subcutánea, con períodos de incubación comprendidos entre 9 y 12 días y muerte a los 3 a 4 días después. Ya hemos considerado este punto en líneas anteriores.

El perro ha sucumbido de rabia parálitica a la introducción del virus en los músculos del muslo, luego de una incubación entre 22 y 24 días y muerte a los tres días de enfermedad, habiéndose mostrado insensible a la acción de la misma emulsión introducida bajo la piel de aquella región.

Lauchas suizas inoculadas por vía intracaudal, según técnica de JONNESCO, han contraído la enfermedad, sin excepción, entre los 8 a 10 días, muriendo entre 24 y 36 horas después.

Señalaremos que en todos estos casos hemos realizado la investigación de corpúsculos de Negri al nivel del C. de Ammon y corteza cerebral, no encontrando el menor indicio de estas inclusiones en los cerebros correspondientes a conejos y lauchas. En cambio, hemos observado al examen del C. de Ammon de los perros N/M y B/N, sobre todo del primero, la presencia de algunas células ganglionares con inclusiones escasas, pero algunas bajo las características morfológicas y tintóreas típicas de los corpúsculos de Negri, junto a otras de aspecto rudimentario y débilmente teñidas. La presencia de estos elementos unido al período de incubación en estos perros, nos indujo a sospechar una reversibilidad de nuestro virus hacia su fuente primitiva, por lo que decidimos inocular dos conejos por vía cerebral y dos perros por vía muscular partiendo de una mezcla de los cuernos de Ammon de ambos perros luego de una permanencia de 6 y 7 días en glicerina a 50 % en sol. fisiológica de pH 7,2, al frío. Ambos conejos contrajeron la enfermedad a los siete días, comportándose el virus dentro de la modalidad que a ese respecto caracteriza su momento evolutivo presente. Uno de los perros enfermó a los 22 días de inoculado, con manifestaciones paráliticas del tren posterior, evolucionando la enfermedad exclusivamente bajo esta forma hacia la muerte que se produjo a los tres días. Una prolija investigación de corpúsculos de Negri en el C. de Ammon, cortezas cerebral y cerebelosa nos reveló una ausencia total de estas inclusiones. El segundo perro aún sobrevive en buenas condiciones, cumplidos dos meses de inoculado. Dos nuevos conejos inoculados en el cerebro con emulsión de C. de Ammon del perro muerto con manifestaciones de rabia parálitica, enfermaron y murieron dentro del plazo habitual característico.

Debemos mencionar, asimismo, un hecho excepcional registrado durante el proceso de los pasajes de nuestro virus por el cerebro del conejo, que depone terminantemente en favor del grado de estabilidad alcanzado en su mutación. Es el siguiente: al cumplirse el pasaje N.º 170 sobre dos conejos inoculados con fecha 16 de Agosto de 1944, uno de los conejos enfermó y murió dentro de los plazos normales. El segundo sobrevivió, siendo conservado en su mismo box. Con fecha 12 de Marzo de 1945, amanece muerto luego de haber permanecido en estado de parálisis confirmada durante 48 horas, la que fué precedida por manifestaciones nerviosas tales como incoordinación en el desplazamiento y algunos signos de excitación traducidos por movimientos bruscos de cabeza, atribuyéndose esto último a la presencia de ácaros en el conducto auditivo externo; pero tanto por su modalidad como por su evolución, la parálisis configuraba una manifestación típica de rabia que, en tal caso, habría respondido a una incubación extraordinariamente prolongada, mas de seis meses y medio. Practicamos una minuciosa investigación de corpúsculos de Negri en el C. de Ammon, siendo su resultado absolutamente

negativo. Con el bulbo, que permaneció ocho días en líquido conservador al frío, se inocularon dos conejos por vía cerebral y dos lauchas suizas por vía intracaudal (Jonnesco). Uno de los conejos enferma con signos paralíticos al octavo día y luego de una evolución lenta muere cinco días más tarde, habiendo permanecido no menos de 48 horas en estado de coma. El segundo conejo también enferma y muere en las mismas condiciones del compañero, con un día de retraso (era de bastante mayor peso que el anterior). Las lauchas amanecen enfermas al noveno día, iniciándose con muestras de excitación (tendencia a morderse la cola en el punto de inoculación y a morder las paredes de la caja junto a los orificios de ventilación). La enfermedad, en ambas, evolucionó rápidamente hacia la muerte que se produjo al finalizar el día luego de algunas horas de parálisis. Total ausencia de corpúsculos de Negri. Partiendo de la sustancia encefálica de estas lauchas y conejos, se hacen dos nuevos pasajes cerebrales por el conejo en dos líneas independientes, lo que permitió recuperar la virulencia inicial de la cepa (7 días de incubación), quedando evidenciado que el conejo atacado de rabia seis meses y medio después de inoculado por vía cerebral, mantenía con sus características casi intactas el virus de 169° pasaje, el que apenas acusó cierto grado de atenuación accidental, ya que no persistió a través de dos nuevos pasajes. Es un hecho que, como se vé, contribuye a valorar ese estado de firme mutación alcanzada por el virus "B. 23".

APTITUD SEPTINEURITICA DEL VIRUS "B. 23". — En otro trabajo anterior ya referido (1937, *loc. cit.*), hemos destacado la importancia, sobre todo de orden práctico, que se le atribuye al fenómeno de la septineuritis en el proceso de la inmunidad rábica, lo que habría hecho pensar que una total protección contra la infección específica puede hallarse directamente vinculada al grado de regularidad con que se cumple la dispersión centrífuga del virus-vacuna para llegar al contacto de toda la red nerviosa periférica. Hemos mencionado la **constancia absoluta** de la aptitud septineurítica del virus de calle y una **inconstancia relativa** para el virus fijo, así como una marcada precocidad en la aparición de ese estado bajo la acción del primero, en contraste con la lentitud que en ese mismo sentido obra el segundo. Estudiando bajo este aspecto el virus fijo "Argentina", pudimos confirmar esas premisas. Hemos realizado pruebas análogas con el virus "B. 23" en la forma que ilustra el cuadro N.º 7, partiendo del virus correspondiente al 196° pasaje. Al efecto fueron sacrificados dos conejos —P. 196/1 y P. 196/2— en plena parálisis confirmada desde 24 horas antes y en evidente estado de coma. Fueron extraídos los nervios ciáticos y braquiales ajustándonos a la técnica indicada por NICOLAU (1). Los resultados de esta prueba, registrados

(1) S. Nicolau, Mme. O. Dimancesco - Nicolau et J. A. Galloway. ETUDE SUR LES SEPTINEVRITES A ULTRAVIRUS NEUROTROPES. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVIII, 1929. N.º 1, pág. 3.

en la sinopsis que va a continuación, demuestran una aptitud septineurítica bien manifiesta, permitiendo apreciar en base a las incubaciones registradas, una actividad equivalente a los títulos de dilución 1:10.000/1:20.000.

C U A D R O N.º 7
APTITUD SEPTINEURITICA DEL VIRUS "B. 23" DE 196º PASAJE

Núm. del conejo	Fecha de inoc.	Procedencia del virus	Dosis c.c.	Inicia Parálisis	Muerte	Observaciones
S. 196-1	16 - 1-46	Br. d. P196/1	0,30	10.º día	13/14 d.	
S. 196-2		" " "	"	9.º "	12 "	
S. 196-3		Ci. i. P196/1	"	" "	12/13 "	
S. 196-4		" " "	"	" "	12/13 "	
S. 196-5		Br. d. P196/2	"	10.º "	12 "	
S. 196-6		" " "	"	9.º "	11/12 "	
S. 196-7		Ci. i. P196/2	"	8.º "	10 "	
S. 196-8		" " "	"	9.º "	12/13 "	

Concretando en un ligero resumen todo lo expuesto, se puede establecer que el virus "B. 23" en el momento actual de su evolución (196º pasaje), responde a las siguientes propiedades de un virus fijo:

- 1.º) Constancia e inmutabilidad en el período de incubación, estabilizado en siete días por pasajes cerebrales en el conejo.
- 2.º) Rigurosa regularidad de la sintomatología en la enfermedad del conejo, a evolución estrictamente paralítica dentro de un cuadro y un tiempo casi idénticos de uno a otro pasaje.
- 3.º) Activo para la especie por vía cerebral a 0,25 ctgrs. de título 3×10^{-4} .
- 4.º) Inactivo para el perro inoculado por vía subcutánea con emulsiones densas, todavía activas, por esa vía, para el conejo.
- 5.º) Aptitud septineurítica positiva y relativamente precoz.
- 6.º) Como antígeno, luego de sufrir la acción de los distintos factores de atenuación que obran en el complejo vacunal fenicado (Umeno y Doi), se ha mostrado tan eficiente como el virus clásico "Argentina" sometido a igual proceso.
- 7.º) Desaparición total de los corpúsculos de Negri en el cuerno de Ammon del conejo, a partir del 5.º pasaje.

REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

A continuación se reproducen los protocolos correspondientes a todo el proceso de transformación en virus fijo del virus "B. 23".

Este trabajo ha sido realizado en:

Instituto de Bacteriología de la Facultad de Veterinaria de Montevideo, dependiente de la Universidad.

Laboratorio de Biología Animal de la Dirección de Ganadería, dependiente del Ministerio de Ganadería y Agricultura.

Sección Veterinaria del Instituto Antirrábico, dependiente del Ministerio de Salud Pública.

Proceso de transformación en Virus fijo, del Virus "B. 23" - Protocolo

Año	Pasajes en conejo	Fecha Inoculación	Inicia parálisis	Incubación	Evolución enfer.	2.º Conejo		Observaciones
						Incub.	Evoluc.	
1937	1	30/III	13/IV	14 d.	d.	14 d.	2 d.	(1) Negri: tip. N.º discreto
	2	15/IV	26/IV	11 "	"	11 "	2 1/2 "	"
	3	29/IV	10/V	11 "	"	11 "	2 1/2 "	"
	4	12/V	22/V	10 "	"	(1) "	"	"
	5	25/V	3/VI	9 "	"	(2) "	"	"
	6	5/VI	14/VI	9 "	"	2 1/2 "	"	"
	7	16/VI	25/VI	9 "	"	2 1/2 "	"	"
	8	28/VI	7/VII	9 "	"	2 "	"	"
	9	9/VII	17/VII	8 "	"	2 "	"	"
	10 (3)	3/VIII	12/VIII	9 "	"	3 "	"	"
	11	16/VIII	23/VIII	9 "	"	3 "	"	"
	12	26/VIII	3/IX	8 1/2 "	"	8 1/2 "	"	"
	13	6/IX	14/IX	8 "	"	8 "	"	"
	14	16/IX	28/IX	8 "	"	8 "	"	Ambos mueren a 24 horas.
	15	1/X	9/X	8 "	"	8 "	"	"
	16	15/X	23/X	8 1/2 "	"	8 1/2 "	"	"
	17	26/X	3/XI	8 "	"	8 "	"	"
	18	9/XI	17/XI	8 "	"	8 "	"	"
	19	22/XI	30/XI	8 "	"	8 "	"	"
1938	20	3/II	11/I	7 "	"	7 "	"	"
	21	22/I	30/I	7 "	"	7 "	"	"
	22	7/II	15/II	7 "	"	7 "	"	"
	23	22/II	2/III	7 "	"	7 "	"	"
	24	8/III	16/III	7 "	"	7 "	"	"
	25	22/III	29/III	7 "	"	7 "	"	"
	26	4/IV	11/IV	7 1/2 "	"	7 1/2 "	"	"
	27	20/IV	27/IV	7 1/2 "	"	7 1/2 "	"	"
	28	3/V	10/V	7 "	"	7 "	"	"
	29	18/V	25/V	7 "	"	7 "	"	"
	30	1/VI	8/VI	7 "	"	7 "	"	"
	31	13/VI	20/VI	7 "	"	7 "	"	"
	32	28/VI	4/VII	7 "	"	7 "	"	"
	33	13/VII	20/VII	7 "	"	7 "	"	"

(1) Este conejo muere al día siguiente de inoculado.

(2) Este conejo muere al tercer día de inoculado.

(3) Este pasaje fué practicado con el virus mantenido en glicerina pura, al frío, durante 15 días.

Se inoculó uno sólo
2.º muere a las 48 horas,
accidentalmente.

Proceso de transformación en Virus fijo, del Virus "B. 23" - Protocolo

Año	Pasajes conejo	Fecha inoculación	Inicia parálisis	Incubación	Evolución enfer.	2.º conejo		Observaciones	
						Incub.	Evoluc.		
1938	34	29/VIII	5/IX	7 d.	2 d.	8 d.	3 d.	Muere por aborto. 2.º de alto peso.	
	35	12/IX	19/IX	7	2	7 1/2	3		
	36	26/IX	3/X	7	3	7	3		
	37	10/X	17/X	7	3	7	3		
	38	24/X	31/X	7	2 1/2	7	2/3		
	39	7/XI	14/XI	7	2 1/2	7	2 1/2		
	40	21/XI	28/XI	7	2 1/2	7	3		
	41	6/XII	13/XII	7	3	7	3		
	42	20/XII	27/XII	7	2	7	2 1/2		
	1939	43	3/I	9/I	6	2	7	3	
		44	17/I	24/I	7	2 1/2	8	3	
		45	15/II	23/II	7	3	8 1/2	3	
		46	28/II	7/III	8	3	7 1/2	3	
		47	14/III	21/III	7	2	7 1/2	2 1/2	
48		28/III	4/IV	7	2 1/2	8	3		
49		11/IV	18/IV	7	2 1/2	7	3		
50		25/IV	2/V	7	2	7	3		
51		9/V	16/V	7	2	8	3		
52		23/V	30/V	7	2	8	3		
53		6/VI	13/VI	7	1 1/2	7	2 1/2		
54		20/VI	27/VI	7	1 1/2	7	2 1/2		
55		4/VII	11/VII	7	2	7	3		
56		19/VII	26/VII	7	2	7	2		
57		1/VIII	8/VIII	7	2 1/2	7	3		
58		9/IX	17/IX	8	2	8	3		
59		27/IX	4/X	7	2	8	3		
60		13/X	20/X	7	3	7	3		
61		26/X	2/XI	7	3	7	3		
62		8/XI	15/XI	7	2 1/2	8	3		
63		22/XI	29/XI	7	3	7	3		
64	6/XII	13/XII	7	3	7	3			
65	20/XII	27/XII	7	3	7	3 1/2			
1940	66	3/I	10/I	7	3	8	3		
	67	19/I	26/I	7	3	8	3		
	68	31/I	7/II	7	3	7	3		
	69	14/II	21/II	7	3	7	3		
	70	28/II	6/III	7	3	7	3 1/2		
	71	13/III	20/III	7	3	7	3 1/2		
	72	27/III	3/IV	7	3	7	3		
	73	9/IV	16/IV	7	2 1/2	7	3		
	74	23/IV	30/IV	7	3	7	3		
	75	7/V	14/V	7	3	7	3		
	76	21/V	28/V	7	3	7	3		
	77	4/VI	11/VI	7	2	7	3		
	78	18/VI	25/VI	7	3	7	3		

Proceso de transformación en Virus fijo, del Virus "B. 23" - Protocolo

Año	Pasaje conejo	Fecha inoculación	Inicia parálisis	Incubación	Evolución enfer.	2.º conejo		Observaciones	
						Incub.	Evoluc.		
1940	79	2/VII	9/VII	7 d.	2 "	7 d.	5 d.		
	80	17/VII	24/VII	7 "	2 "	7 "	1 1/2 "		
	81	30/VII	6/VIII	7 "	2 "	7 "	3 "		
	82	13/VIII	20/VIII	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
	83	27/VIII	3/IX	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
	84	10/IX	17/IX	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
	85	24/IX	1/X	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
	86	9/X	16/X	7 "	2 "	7 "	3 "		
	87	22/X	29/X	7 "	3 "	7 7/8 "	3 "		
	88	5/XI	12/XI	7 "	3 "	7 1/2 "	3 "	2.º muere accidentalmente.	
	89	19/XI	26/XI	7 "	3 "	7 "	3 "		
	90	3/XII	10/XII	7 "	2 "	7 "	3 1/2 "		
	91	17/XII	24/XII	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
	92	31/XII	7/1.º/41	7 "	3 "	7 "	3 "		
	1941	93	14/I	21/I	7 "	3 "	7 1/2 "	3 1/2 "	2.º muere a las 48 horas.
		94	28/I	4/II	7 "	3 "	7 "	3 "	
		95	11/II	18/II	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "	
		96	26/II	5/III	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "	
		97	11/III	18/III	7 "	3 "	7 "	3 "	
		98	25/III	1/IV	7 "	3 "	7 "	3 "	
		99	10/IV	17/IV	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "	
100		22/IV	29/IV	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
101		7/V	14/V	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
102		21/V	28/V	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
103		4/VI	11/VI	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
104		18/VI	25/VI	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		
105		2/VII	9/VII	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
106		15/VII	22/VII	7 "	3 "	7 "	3 "		
107		29/VII	5/VIII	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
108		12/VIII	19/VIII	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
109		28/VIII	4/IX	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
110		10/IX	17/IX	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
111		29/X	5/XI	7 "	3 "	7 "	3 1/2 "		
112		11/XI	18/XI	7 "	2 "	8 "	3 "	2.º de alto peso.	
113		25/XI	2/XII	7 "	3 "	7 "	3 "		
114	10/XII	17/XII	7 "	3 "	7 "	3 1/2 "			
115	24/XII	31/XII	7 "	3 "	7 "	3 "			
1942	116	9/I	16/I	7 "	2/3 "	7 "	3 "		
	117	23/I	30/I	7 "	3 "	7 "	3 1/2 "		
	118	6/II	13/II	7 "	2 1/2 "	7 "	2 1/2 "		
	119	20/II	27/II	7 "	3 "	7 "	3 "		
	120	6/III	13/III	7 "	2 1/2 "	7 "	3 "		

Proceso de transformación en Virus fijo, del Virus "B. 23" - Protocolo

Año.	Pasaje conejo	Fecha inoculación	Inicia parálisis	Incubación	Evolución enfer.	2.º conejo		Observaciones
						Incub.	Evoluc.	
1942	121	20/III	27/III	7 d.	2 1/2 d.	7	8 d.	2.º mutere a las 24 horas.
	122	3/IV	10/IV	7	2 1/2	7	8	
	123	14/IV	21/IV	7	2 1/2	10	9 1/2	
	124	88/IV	5/V	7	3	7	9 1/2	
	125	12/V	19/V	7	2 1/2	7	9 1/2	
	126	28/V	4/VI	7	3	7	9 1/2	
	127	11/VI	18/VI	7	2 1/2	10	9	
	128	25/VI	2/VII	6	2 1/2	7	9 1/2	
	129	10/VII	16/VII	6/7	3	6/7	9	
	130	23/VII	29/30/VII	6/7	2 1/2	7	9	
	131	6/VIII	12/13/VIII	7	2 1/2	7	9	
	132	21/VIII	28/VIII	6	2 1/2	7	9	
	133	8/IX	14/IX	6	2 1/2	7	9	
	134	22/IX	28/IX	6	2 1/2	7	9	
	135	6/X	12/13/X	6/7	2 1/2	6/7	8 1/2	
	136	22/X	9/29/X	6/7	2 1/2	6/7	8 1/2	
	137	6/XI	12/13/XI	6/7	2 1/2	7	9	
	138	27/XI	3/4/XII	6/7	2 1/2	7	9	
	139	15/XII	21/XII	6	2 1/2	7	9	
1943	140	13/I	20/I	7	3	7	8	Se inoculó uno.
	141	5/II	12/II	7	3	7	8	
	142	26/II	5/III	7	3	7	8	
	143	17/III	24/III	7	3	7	8	
	144	1/IV	7/8/IV	6/7	3	7	8	
	145	15/IV	22/IV	7	3	7	8	
	146	29/IV	6/V	7	3	7	8	
	147	13/V	19/20/V	6/7	2 1/2	7	8 1/2	
	148	27/V	3/VI	7	3	7	8	
	149	10/VI	16/17/VI	6/7	3	7	8	
	150	24/VI	30/1	6/7	3	7	8	
	151(1)	10/VIII	17/V/III	7	3	7	8	
	152	25/VIII	31/1	6/7	3	7	8	
	153	14/IX	21/IX	7	3	7	8	
	154	2/X	9/X	7	3	7	8	
	155	15/X	22/X	7	3	7	8	
	156	5/XI	12/XI	7	3	7	8	
	157	24/XI	1/XII	7	3	7	8	
	158	27/XII	3/1/44	7	2 1/2	7	8 1/2	

(1) Este pasaje fue practicado el 10/VII pero se anuló por haberse mostrado irregular el virus de 150º, retomándose el de 149º con fecha 21/VII.

Proceso de transformación en Virus fijo, del Virus "B. 23" - Protocolo

Año	Pasaje conejo	Fecha inoculación	Inicia parálisis	Incubación	Evolución enfer.	2.º conejo		Observaciones
						Incub.	Evoluc.	
1944	159	10/I	17/I	7 d.	3 d.	7 d.	3 d.	6 ½ meses incubación. 2.º muerte precoz. 2.º de alto peso.
	160	25/II	1/II	7	3	7	3 ½	
	161	9/II	16/II	7	3	7	3	
	162	25/II	3/III	7	3 ½	7	3	
	163	10/III	17/III	7	3	7/8	3 ½	
	164	27/III	3/IV	7	3	8	3	
	165	14/IV	21/IV	7	3	7/8	3	
	166	27/IV	4/V	7	3	7/8	3	
	167	30/V	6/7/VI	7/8	3	8	3	
	168	22/VI	29/VI	7	3 ½	8	3	
	169	8/VII	15/VII	7	3	8	3	
	170	16/VIII	23/VIII	7	3	10/6	4	
	171	11/IX	18/IX	7	3	7	4	
	172	28/IX	5/X	7	3	7	3	
	173	19/X	26/X	7	3	—	3	
	174	13/XI	20/XI	7	3	7/8	3 ½	
	175	4/XII	11/XII	7	3	8	3	
176	28/XII	4/1/45	7	3	7	3		
1945	177	11/I	16/I	7	2S	7	3	"S" = Sacrificado.
	178	31/I	7/II	7	2S	7	3	
	179	22/II	1/III	7	3	7	3	
	180	15/III	22/III	7	3	7/8	3	
	181	5/IV	12/IV	7	2 ½	7	3	
	182	26/IV	3/V	7	2S	7	3	
	183	17/V	24/V	7	2 ½	7	3	
	184	31/V	7/VI	7	3	8	3	
	185	14/VI	21/VI	7	3	7	3 ½	
	186	5/VII	12/VII	7	3 ½	7	3	
	187	26/VII	2/VIII	7	3	7/8	3	
	188	16/VIII	23/VIII	7	3	7	3	
	189	30/VIII	6/IX	7	3	7/8	3	
	190	13/IX	20/IX	7	3	7/8	3	
	191	4/X	11/X	7	3	7	3	
	192	25/X	1/XI	7	3	7	3 ½	
	193	8/XI	15/XI	7	3 ½	7	3	
194	29/XI	16/XII	7	3	7	3		
195	20/XII	27/XII	7	2S	7	3		
1946	196	5/I	12/I	7	3S	7	3 ½	Dilución 1:500. " " " " 1:100.
	197	22/I	29/II	7	3S	7/8	3 ½	
	198	8/II	15/II	7	3S	7	3	
	199	20/II	27/II	7	3S	7	3	
	200	11/III	18/III	7	2S	7	3	