

Tifus murino en Puerto Rico¹

Por A. POMALES LEBRÓN

Del Departamento de Bacteriología e Inmunología de la Escuela de Medicina Tropical de San Juan de Puerto Rico

EL año 1940² se descubrió en Puerto Rico por primera vez un estado febril de tipo tífico y desde entonces, año tras año, ha venido aumentando el número de casos, hasta un total de 700 registrados en la ciudad de San Juan, sin que a la fecha se haya podido determinar si se trataba efectivamente de intensificación de la morbilidad o de una exaltación de la virulencia de la enfermedad.

Los resultados obtenidos con las reacciones de fijación de complemento con sueros humanos han demostrado de manera concluyente que la enfermedad de que se trata es el tifus murino (v. cuadro 1).³

Presentamos aquí un breve resumen de las investigaciones que hemos realizado con objeto de estudiar algunos de los aspectos de esta enfermedad, tal como aparecen en el medio ambiente puertorriqueño.

Bacilos del grupo proteus. Hemos estudiado las características biológicas y las propiedades aglutinantes de cierto número de cepas *proteus* aisladas en este país, procedentes de diferentes orígenes, y 72 cultivos de los tipos bacilares OX19, OX2 ó OXK, procedentes de treinta laboratorios de Sanidad de los EE. UU., donde se utilizaban para la preparación de las suspensiones con que realizar reacciones Weil-Felix.⁴

En Puerto Rico no hemos encontrado todavía microorganismos de tipo X entre las cepas *proteus* que se han aislado. Una cepa de *Escherichia coli*, procedente de heces fecales humanas, aglutinó rápidamente con sueros tíficos. De los 72 cultivos de *proteus* X estudiados, cinco dieron reacciones biológicas atípicas, pero aglutinaron bien con los sueros tíficos. Uno de los cultivos clasificado como *proteus* OX19 dió reacciones atípicas, pero no aglutinó con los sueros tíficos.

Reacción de Weil-Felix en los seres humanos. Realizamos la reacción de W-F con 1,000 sueros humanos normales y con 50 sueros

1. Recibido para la publicación el 28 de octubre de 1947.

2. J. A. Pons, Is there Brill's disease in Puerto Rico. Bol. Asoc. Méd. de Puerto Rico, 32:196, 1940; There is endemic murine typhus in Puerto Rico. Puerto Rico Health Bull., 5:383-386, 1941.

3. Hecho corroborado por investigaciones de Koppisch, quien ha aislado rickettsias de origen humano y murino.

4. A. Pomales Lebrón and P. Morales Otero, the Weil-Felix reaction and the proteus group of bacteria. Puerto Rico J. Pub. Health and Trop. Med., 18:412-422, 1943.

Tifus murino en Puerto Rico¹

Por A. POMALES LEBRÓN

Del Departamento de Bacteriología e Inmunología de la Escuela de Medicina Tropical de San Juan de Puerto Rico

EL año 1940² se descubrió en Puerto Rico por primera vez un estado febril de tipo tífico y desde entonces, año tras año, ha venido aumentando el número de casos, hasta un total de 700 registrados en la ciudad de San Juan, sin que a la fecha se haya podido determinar si se trataba efectivamente de intensificación de la morbilidad o de una exaltación de la virulencia de la enfermedad.

Los resultados obtenidos con las reacciones de fijación de complemento con sueros humanos han demostrado de manera concluyente que la enfermedad de que se trata es el tifus murino (v. cuadro 1).³

Presentamos aquí un breve resumen de las investigaciones que hemos realizado con objeto de estudiar algunos de los aspectos de esta enfermedad, tal como aparecen en el medio ambiente puertorriqueño.

Bacilos del grupo proteus. Hemos estudiado las características biológicas y las propiedades aglutinantes de cierto número de cepas *proteus* aisladas en este país, procedentes de diferentes orígenes, y 72 cultivos de los tipos bacilares OX19, OX2 ó OXK, procedentes de treinta laboratorios de Sanidad de los EE. UU., donde se utilizaban para la preparación de las suspensiones con que realizar reacciones Weil-Felix.⁴

En Puerto Rico no hemos encontrado todavía microorganismos de tipo X entre las cepas *proteus* que se han aislado. Una cepa de *Escherichia coli*, procedente de heces fecales humanas, aglutinó rápidamente con sueros tíficos. De los 72 cultivos de *proteus* X estudiados, cinco dieron reacciones biológicas atípicas, pero aglutinaron bien con los sueros tíficos. Uno de los cultivos clasificado como *proteus* OX19 dió reacciones atípicas, pero no aglutinó con los sueros tíficos.

Reacción de Weil-Felix en los seres humanos. Realizamos la reacción de W-F con 1,000 sueros humanos normales y con 50 sueros

TABLA 1
Reacción de Weil-Felix en los casos de tifus murino

Casos	Días despues del comienzo	Reacción Weil-Felix	Reacción de fijación de complemento	
			Con antígenos endémicos	Con antígenos epidémicos
J.H.S.	16	1/25,600	1/32,768 ^d	18,192 ^d
J.H.S.	1,285	1/200	1/16 ^d	1/8 ^d
D.F.M.	95	1/200	1/160 ^c	1/10 ^c
H.A.	25	1/1,600	1/40 ^c	Negativo ^c
T.D.	23	1/3,200	1/80 ^c	Negativo ^c
C.M.V. ^a	10	1/400	Negativo ^c	Negativo ^c
C.M.V.	200	?	1/32 ^d	1/8 ^d
M.F.C.	9	1/100	Negativo ^c	Negativo ^c
M.F.C.	12	1/800	1/10 ^c	1/10 ^c
M.F.C.	15	1/1,600	1/40 ^c	1/10 ^c
N.D.	180	1/800	1/2 ^d	Negativo ^d
D.M.V.	12	1/12,800	1/16 ^d	Negativo ^d
D.M.V.	58	1/1,600	1/64 ^d	Negativo ^d
D.M.V.	223	1/800	1/80 ^c	1/10 ^c
M.G. ^b	10	1/100	1/320 ^c	1/640 ^c
L.M.	84	1/800	1/160 ^c	Negativo ^c
M.F.R.	116	1/800	1/1,280 ^c	1/160 ^c
M.R.	11	1/25,600	1/128 ^d	Negativo ^d
L.R.F.	256	1/100	1/160 ^c	1/20 ^c
D.S.	20	1/102,400	1/20 ^c	1/10 ^c
D.S.	143	1/800	1/320 ^c	1/20 ^c
J.A.T. ^a	12	1/3,200	Negativo ^c	Negativo ^c
R.M. ^a	12	1/800	Negativo ^c	Negativo ^c
L.C.	160		1/32 ^d	1/4 ^d
O.B.S.	570		1/4 ^d	Negativo ^d
J.C.P.	884		1/8 ^d	Negativo ^d
C.G.A.	872		1/16 ^d	1/4 ^d
L.J.S.	244		1/4 ^d	Negativo ^d
M.F.	292		1/32 ^d	1/16 ^d
M.R.A.	189		1/64 ^d	1/8 ^d
G.O.	153		1/64 ^d	1/8 ^d
S.P.	331		1/128 ^d	1/8 ^d
A.G.	671		1/16 ^d	1/4 ^d
M.J.M.	420		1/64 ^d	1/16 ^d
G.C.	11		1/256 ^d	1/64 ^d
C.O.	13		1/64 ^d	1/32 ^d
C.O.	20		1/512 ^d	1/128 ^d
C.O.	39		1/512 ^d	1/256 ^d
L.F.	9		1/512 ^d	1/256
L.F.	15		1/1,024 ^d	1/512 ^d
B.C.Q.	9		1/28 ^d	1/64 ^d
S.D.	13		1/512 ^d	1/128 ^d
S.M.	9		1/256 ^d	1/64 ^d
A.R.	90		1/512 ^d	1/128 ^d
B.N.	14		1/1,024 ^d	1/512 ^d
J.R.	10		1/128 ^d	1/64 ^d
V.S.	9		1/2,048 ^d	1/2,048 ^d
V.S.	10		1/4,096 ^d	1/2,048 ^d
V.S.	15		1/2,048 ^d	1/1,024 ^d
L.R.	8		1/256 ^d	1/128 ^d
L.R.	11		1/2,048 ^d	1/1,024 ^d
L.R.	150		1/256 ^d	1/128 ^d
A.S.	20		1/512 ^d	1/128 ^d
A.S.	144		1/64 ^d	1/8 ^d
L.C.	19		1/1,024 ^d	1/1,024 ^d
L.C.	36		1/512 ^d	1/256 ^d
H.D.C.	12		1/512 ^d	1/256 ^d

^aCasos comprobados de tifus endémico. Algo más tarde se obtuvo una reacción positiva de fijación de complemento.

^bLos resultados de la prueba de fijación de complemento en esta muestra (M.G.) son interesantes porque la titulación del antígeno epidémico fué elevada. Sin embargo, la inoculación de la sangre de este enfermo a un conejillo produjo fiebre y reacción escrotal típica. La fijación complementaria en el animal fué: con antígeno epidémico: 1/10; con antígeno en-

1. Recibido para la publicación el 28 de octubre de 1947.

2. J. A. Pons, Is there Brill's disease in Puerto Rico. Bol.Asoc.Méd.de Puerto Rico, 32:196, 1940; There is endemic murine typhus in Puerto Rico. Puerto Rico Health Bull., 5:383-386, 1941.

3. Hecho corroborado por investigaciones de Koppisch, quien ha aislado rickettsias de origen humano y murino.

4. A. Pomales Lebrón and P. Morales Otero, the Weil-Felix reaction and the proteus group of bacteria. Puerto Rico J.Pub.Health and Trop.Med., 18:412-422, 1943.

de enfermos tíficos. Utilizamos para ello la prueba macroscópica en tubos de ensayo y suspensiones bacilares tratadas con alcohol.

Cuando la seroaglutinación daba una sola cruz (+), interpretábamos que la reacción había terminado. Una seroaglutinación positiva, en una solución sérica final de 1:800, hubimos de considerarla con valor diagnóstico. Creemos que, en un área geográfica endémica de esta enfermedad, es muy conveniente realizar una investigación serológica preliminar de la población, utilizando para ello un antígeno estable (alcoholizado) de proteus OX19. Esto servirá para saber qué titulación deberá corresponder a las aglutininas del OX19, para que tenga valor diagnóstico cuando se practica con este fin una sola prueba.

*Reacción de fijación de complemento en los seres humanos.*⁵ Se practicó esta reacción en 41 enfermos tíficos, utilizando antígenos epidémicos y endémicos (v. cuadro 1). La fijación de anticuerpos complementarios se produjo desde el VIII al XII día después del estallido de la enfermedad. En el momento en que escribimos estas notas todos los enfermos, transcurridos cinco años de estar curados, dan aún reacción positiva. Dos casos en los que se formuló retrospectivamente el diagnóstico de la enfermedad, daban aún una reacción positiva al cabo de 8 y 10 años.

En el Banco de Sangre de la Escuela de Medicina Tropical tomamos muestras de sueros de un millar de donantes de los que allí concurren procedentes de todas partes de la isla, y realizamos las pruebas de fijación de complemento, obteniendo una proporción de positividad de 3.5 por ciento, en diluciones séricas de 1:4 a 1:8.⁶ La tercera parte, aproximadamente, de estos sujetos residía en la ciudad de San Juan, donde es endémico el tifus murino. Dos terceras partes de los sujetos con reacción positiva procedían de esta población.

Reacciones seriadas de Weil-Felix en seres humanos. Hemos estudiado los sueros de 20 enfermos tíficos, practicando la reacción W-F a intervalos regulares. La aglutinación del proteus OX19 apareció de 5 a 7 días después de establecida la enfermedad. La titulación aglutinínica se elevó prontamente, llegando al máximo de los 7 a los 10 días, permaneciendo estacionaria a un alto nivel durante una semana aproximadamente, comenzando a descender al

5. I. A. Bengston, Complement-fixation in the rickettsial disease. Technique of the test. Pub. Health Rep., 59; March 24, 1944.

6. Hemos usado antígeno epidémico (lote 285H618A) obtenido de los Laboratorios Lederle (Pearl River, N.Y.), salvo en los casos en que se indique otra cosa. Este antígeno resultó muy seguro al determinar la existencia de anticuerpos, pero no de especificidad absoluta, por lo cual no pudimos emplearlo en las pruebas de fijación realizadas con objeto de diferenciar el tifus murino y el tifus epidémico, pues lo impedía el antígeno grupal. Al iniciar nuestras indagaciones no pudimos proveernos de un antígeno endémico.

mismo tiempo que se producía la defervescencia de la enfermedad, para desaparecer al fin o quedar estacionada en un bajo nivel aglutinínico (1:25 a 1:200) en un período oscilante entre seis semanas y tres meses. No observamos paralelismo alguno entre la intensidad o fluctuación de la reacciones W-F y las de fijación de complemento (v. cuadro 1). En un caso, las aglutininas OX19 no se demostraron hasta transcurridos dieciseis días. En otro, la titulación máxima alcanzada fué de 1:400, pero la reacción había sido negativa en la primera prueba realizada tres días después de instalada la enfermedad. En ocasiones como ésta es cuando una sola reacción W-F carece en absoluto de valor diagnóstico.

Reacciones Weil-Felix y de fijación de complemento realizadas en ratas infectadas experimentalmente. Para esta labor utilizamos una cepa murina típica (cepa Gómez).⁷ Inoculamos por vía intraperitoneal o subcutánea seis ratas realengas (esp. *R. norvegicus*) encerradas en jaulas, y catorce ratas blancas. Inyectamos cantidades variables (de 0.1 a 2 cc.) de una mezcla de líquido procedente del lavado de túnica vaginal y una suspensión de masa encefálica de cobayos infectados. Como animales testigos del experimento, inoculamos ratas con una mezcla calentada (a 60° C durante 30 m.) de tejido cerebral y líquido procedente del lavado testicular de conejillos normales. Dejamos, además, sin inocular cuatro ratas blancas normales. Mientras se realizaba este experimento todos los animales estuvieron cautivos, separados en jaulas individuales.

Todos los animales antes de ser inoculados dieron una reacción de fijación de complemento negativa, y todos, menos tres, W-F negativa. Todas las ratas testigos conservaron su negatividad a las pruebas W-F y de fijación de complemento, y su tejido cerebral, a la terminación del experimento, no resultó infectante para otros animales.

Las seroaglutininas del proteus OX19 aparecieron entre los 5 y los 8 días después de la inoculación, casi siempre a poca concentración inicial (1:50 ó 1:100), llegando en una ocasión a 1:1,600, pero nunca pasó de 1:3,100 en ninguna de las ratas. En la mayor parte de los casos las aglutininas desaparecieron al cabo de dos o tres semanas, pero en algunos persistían aún durante uno o dos meses; rara vez, más tiempo. En alguna que otra ocasión una rata no fabricaba aglu-

7. Obtenida por el Dr. Koppisch en un enfermo con tifus. Esta cepa producía fiebre alta y reacción escrotal en los cobayos. La sangre del enfermo y la del cobayo inoculado dieron reacción positiva de fijación de complemento, mucho más intensa con la cepa murina que con el antígeno epidémico.

tinina OX19, pero daba una reacción positiva de fijación complementaria cuya titulación llegaba hasta 1:1,024.

La fijación de anticuerpos pudo demostrarse también de los 5 a los 8 días después de la inoculación. La titulación máxima se alcanzó entre las dos semanas y un mes, comenzando entonces a declinar, sin desaparecer completamente, dentro del período experimental, que llegó hasta 16 meses, en que se sacrificó la última rata. No se observaron diferencias entre las reacciones de fijación o W-F manifestadas por las ratas blancas o ratas comunes (*R. norvegicus*) enjauladas.

Reacción Weil-Felix y de fijación de complemento entre la población murina de la ciudad de San Juan de Puerto Rico. Desde el 7 de diciembre de 1944 hasta el 22 de junio de 1945 se atraparon en San Juan 443 ratas, de las cuales 30 dieron reacciones séricas anticomplementarias. De las 413 ratas restantes, 233 (54%) dieron reacción de fijación de complemento positiva, lo cual demuestra concluyentemente que la infección tífica era muy abundante en el lote de ratas estudiadas. Según Brigham y Bengtson,⁸ entre las ratas de Savannah la positividad es de 44.2 por ciento; Pollard y Augustson,⁹ en las ratas atrapadas en establecimientos de productos alimenticios de los alrededores de San Antonio (Tejas), donde se sospecha existen focos locales de infección, el porcentaje de reacción positiva fué 55.3 por ciento. Realizamos 251 reacciones de Weil-Felix, de las cuales resultaron 61 (24%) positivas; 139 dieron reacción de fijación de complemento positiva, entre los cuales, 42 (30%) con W-F positiva. Entre 112 sueros con reacción de fijación de complemento positiva, resultaron 19 (17%) con W-F positiva. No hubo correlación en las reacciones W-F y las de fijación de complemento en estas ratas. Esto se debe en parte a la fugacidad de las aglutininas del OX19, todo lo contrario del carácter permanente de los anticuerpos fijadores de complemento y, además, se debe a que en el suero de ratas no infectadas aparecen aglutininas no específicas del proteus. Recordamos a este propósito los trabajos de Brigham y Bengtson,¹⁰ publicados cuando estábamos llevando a cabo nuestra investigación, en la que hemos corroborado muchas de sus conclusiones.

Enviamos al Dr. Harry Plotz, del *Army Medical School*, 39

8. G. D. Brigham and I. A. Bengtson, A study of the complement-fixation and Weil-Felix reactions in wild rats as related to the isolation of the virus of endemic typhus. *Pub. Health Rep.*, 60:29-45, 1945.

9. M. Pollard and G. F. Augustson, Serological and entomological survey of murine typhus. *Am. J. Trop. Med.*, 25:31-32, 1944.

10. G. D. Brigham and I. A. Bengtson, *op. cit.*

TABLA 2

Reacción de Weil-Felix en los casos de tifus murino en Puerto Rico

Núm. del suero	Antígeno epidémico ^a (purificado)	Antígeno murino (purificado)	Antígeno epidémico grupal ^b (Lederle, lote núm. 285H618A)
9	20	320	4
34	40P	320P	32
35	80	320	32
36	80	320 como mínimo	32
88	40	320 como mínimo	16
96	40P	320	16
99	160	320 como mínimo	32 como mínimo
108	10P	10P	16
124	80	320	32
135	40	160	32
162	80	160	32 como mínimo
186	160P	320	32
205	0	0	0
222	0	40	4
225	20	80	32 como mínimo
236	10	40	4
249	10	160	32 como mínimo
261	10	640	32 como mínimo
326	80P	160	32 como mínimo
327	40	40	32
332	20	20	16
337	20	80	32 como mínimo
358	10	40	32
361	20P	640	32
366	160	320 como mínimo	32
368	20	160	32
377	160P	320	16
382	0	40	8
392	0	40	16
393	80	320	32 como mínimo
394	40	80	8
404	40P	320P	32 como mínimo
407	20	320	16
416	40	640P	32 como mínimo
420	20	640	32 como mínimo
422	320P	320 como mínimo	32 como mínimo
430	80	320	32 como mínimo
440	160	320	32 como mínimo
441	160	640	32

^aPruebas verificadas por Dr. Plotz y J. M. Snyder. La dilución más baja sometida a comprobación fué 1:10. P significa fijación parcial (++)

^bPruebas verificadas por nosotros. La dilución más baja de suero sometida a comprobación fué 1:12, la más elevada 1:32. Término de la fijación, +++.

muestras de sueros procedentes de ratas capturadas en la ciudad de San Juan. Las comprobaciones ejecutadas por él y su ayudante (Merrill J. Snyder), utilizando antígenos purificados de tifus murino y epidémico, dieron los resultados que aparecen en el cuadro 2, en el que se incluyen, además, los obtenidos por nosotros con antígeno del grupo epidémico (*Lederle*, lote W285H618A). Desde luego que nuestros resultados no pueden compararse con los de Plotz y Snyder, quienes aplicaron técnicas y antígenos diferentes.

Plotz y Snyder formularon un diagnóstico definitivo de tifus murino en 36 casos. En dos (núm. 108 y 327) no pudieron llegar a ninguna conclusión. El suero de la rata número 205 dió negativo con los tres antígenos. Esto corrobora una vez más la fidelidad del antígeno grupal epidémico (*Lederle*, lote W285H618A) para determinar la presencia de anticuerpos típicos complementarios, tanto con los enfermos sospechosos de tifus murino como en las ratas.

Observáronse ciertas diferencias significativas en la proporción de reacciones positivas entre los animales, según fuera el sitio de la ciudad y los diferentes meses del año en que fueron atrapados. Sin embargo, cuando se capturaron ratas repetidas veces en los mismos parajes y en distintas épocas del año, no se notó diferencia mayor en la proporción de animales con reacción positiva. Esto parece indicar que el índice de infección, a juzgar por la fijación de complemento entre estas ratas, puede depender de la localidad de donde procedan y no de variación estacional alguna.

La falta de relación entre la estación del año y la proporción de ratas con reacción positiva de fijación complementaria aparece en contraste evidente con la variación estacional que se observa (según comunicación de Arbona)¹¹ en la incidencia de casos humanos de tifus murino en Puerto Rico.

En cuanto al sexo o especie de los animales, no se ha podido notar diferencia alguna en la proporción de reacciones complementarias positivas. Con todo, la positividad entre las ratas de distinto tamaño (edad) sí tiene significación (v. cuadro 3). Ello tiene importancia, porque si se seleccionan solamente animales de gran tamaño, los resultados que se obtendrán no representarán el verdadero índice de infección de la población murina en el lugar que se vaya a estudiar.

11. G. Arbona, Atabrine in the treatment of endemic typhus fever. *Bul. Asor. Med. de Puerto Rico*, 37:208-210, 1945

CUADRO 3

Reacción de fijación de complemento en ratas de diferentes tamaños

Tamaño	Pequeño	Mediano	Grande
Núm. de ratas examinadas	24	72	141
Positivas	10	40	98
Porcentaje de positividad	42	55	70

Infectividad de vísceras, tejidos, orina y heces fecales en los animales. Hemos realizado algunos experimentos para averiguar el grado de infectividad del material inyectado, tomando como índice de ello la producción de anticuerpos capaces de determinar una reacción de fijación de complemento. Como animales de experimentación utilizamos ratas albinas con reacción de fijación de complemento negativa para el tipo endémico, determinada antes de proceder a la inoculación intraperitoneal del material que íbamos a investigar. Tres semanas después de la inoculación sacrificábamos el animal después de tomar una muestra de sangre del corazón, e inoculábamos su masa encefálica a ratas normales, a las que sangrábamos tres semanas más tarde. Si al someter a comprobación los sueros sanguíneos daban ambos reacción positiva de fijación de complemento, considerábamos infectante el material que habíamos inoculado; si por el contrario, ambas reacciones resultaban negativas, el material inoculado era clasificado como no infectante. Nunca, en este experimento, se dió el caso de que una rata apareciese con reacción de fijación de complemento positiva y la otra con reacción negativa.

Adoptado este hecho como criterio para juzgar la infectividad, comenzamos a estudiar ratas infectadas a diferentes intervalos de tiempo, después de haber sido inoculadas con secreciones, órganos, tejidos, etc.

Inoculamos sangre extraída directamente del corazón, en cantidades varias: de 0.25 cc. a 1 cc. Con las heces fecales preparábamos una suspensión en solución salina y procedíamos a inyectar tan pronto como se asentaban por gravedad las partículas gruesas. Con los tejidos hacíamos una mezcla con polvo de arena, amasándola hasta formar una pasta fina que suspendíamos después en solución salina.

Como paso preliminar en la investigación, hubimos de determinar el momento en que aparece o desaparece la infectividad en la sangre de las ratas inoculadas con un tejido cerebral infectante ya conocido. La sangre de las ratas inoculadas se tornó infectante al cabo de 4 a 6 días y conservó su infectividad unas tres semanas.¹² Transcu-

12. Cuando se inyecta a las ratas, por vía intraperitoneal, grandes cantidades de rickettsias

jeringa de 5 cc., provista de aguja larga de punta roma) en cuatro ratas, a las que administramos 2 cc. de una suspensión de masa cerebral infectante (cepa Gómez). Dos animales quedaron infectados, pero no debemos olvidar que quizás al introducir la aguja pudo ésta lacerar la mucosa.

A otras doce ratas se les administró un cc. a cada una de suspensión de tejido cerebral infectante (cepa Wilmington), introduciendo el material directamente en el estómago por medio de un catéter de goma núm. 10. Ninguno de los animales quedó infectado y sus heces fecales, recogidas 24 horas después de introducido el inóculo por vía gástrica, resultaron desprovistas de poder infectante cuando con ellas inoculamos intraperitonealmente ratas blancas.

Utilizamos suspensiones liofilizadas de leche, que contenían gran cantidad de microorganismos virulentos: rickettsias tíficas murinas, cepa Wilmington. Rehidratamos las suspensiones con agua destilada e inoculamos este material, no diluido, por vía gástrica, con catéter núm. 10, a tres ratas: a una, 0.1 cc.; a otra, 0.2 cc. y a la tercera, 0.5 cc. Sólo la primera (dosis administrada: 0.1 cc.) resultó infectada.

Las dificultades con que hemos tropezado al tratar de producir la infección por vía digestiva indican la posibilidad de que las rickettsias hayan sido destruidas por los ácidos gástricos. Si a esto añadimos que la sangre y las vísceras internas conservan únicamente su capacidad infectante por tiempo relativamente breve después de la inoculación experimental dentro del peritoneo, tenemos que concluir que la necrofagia no debe ser, como se ha supuesto, un medio de transmisión natural común de la infección entre las ratas.

Infectividad del tejido cerebral, la sangre y la orina de las ratas realengas. Desde el día 21 de mayo al 21 de junio de 1947 se atraparon 25 ratas en los mismos sitios de donde procedían los animales que habían dado reacción positiva de fijación de complemento en el año 1945. Escogimos de propósito esos meses del año por ser la época de incidencia máxima de casos humanos de tifus murino en la ciudad de San Juan.

Las ratas fueron capturadas vivas y se las encerró en pequeñas jaulas de alambre; se les dió agua de bebida, pero no alimentos, y se colocaron las jaulas dentro de grandes embudos de vidrio cubiertos con doble capa de gasa. Al cabo de pocos minutos o en el transcurso de dos horas las ratas eliminaron unos 5 a 6 cc. de orina, que se recogió en frasco de cristal esterilizado. Repartimos la orina en dos porciones iguales y procedimos a inyectar con ellas, intraperitonealmente, una rata albina y un cobayo, cuyos animales reaccionaron ambos negativamente cuando ejecutamos la prueba de fijación de

complemento. La mayor parte de las veces las muestras de orina, en el momento de ejecutarse la inoculación, no tenía 30 minutos de haber sido expulsada y en ninguna ocasión más de dos horas.

Desangrábamos entonces la rata hasta que moría, e inoculábamos al momento una rata albina y un cobayo, inyectando por vía intraperitoneal de 0.5 a 3 cc. de la sangre fresca, reservando de ella un cc. para verificar después la prueba de fijación de complemento.

Extraíamos la masa encefálica en condiciones aspélicas y la molíamos en el almirez junto con arena estéril, preparando después una suspensión en solución salina. Repartido el material en partes iguales, inoculamos con cada una de ellas una rata albina y un cobayo.

A éste lo sometíamos a observación durante quince días, tomándole la temperatura diariamente y vigilando la aparición de inflamación escrotal. A las ratas albinas no se les tomó la temperatura ni se tuvo en cuenta la reacción del escroto. Transcurridas tres semanas, por lo menos, de haber sido inoculados los cobayos y las ratas blancas sobrevivientes, se les tomaron muestras de sangre para utilizarla en la prueba de fijación complementaria. En la mayoría de los casos verificamos tres o más sangrías. Para juzgar de la infectividad del material inoculado (sangre, orina, excremento), aplicábamos el mismo criterio descrito anteriormente, teniendo en consideración, en cuanto a los cobayos se refiere, la curva térmica y la inflamación reactiva escrotal.

Entre 25 ratas comunes, se practicó la reacción de fijación de complemento a 22, de las cuales, 9 (41%) dieron reacción positiva. Las muestras de orina de esas 25 ratas no reprodujeron la infección tífica, ni en las ratas blancas ni en los cobayos. Después de recoger las muestras de orina se escaparon tres ratas, de suerte que sólo pudimos experimentar con la sangre y la masa encefálica de los 22 animales restantes. En ningún caso la sangre logró provocar la infección tífica. En dos casos, sólo el tejido cerebral reprodujo la infección y precisamente esas dos ratas dieron reacción positiva de fijación complementaria. Debemos hacer notar que las otras siete ratas con reacción positiva no lograron reproducir la infección tífica en las ratas blancas ni en los cobayos, cuando se les inoculó con tejido cerebral, orina y heces fecales por vía intraperitoneal.

Brigham y Bengtson¹³ tropezaron con ciertas dificultades cuando trataron de aislar cepas de tifus murino en ratas con reacción de fijación positiva, que habían sido capturadas el mes de julio, y a este

13. G. D. Brigham and I. D. Bengtson, *op. cit.*

efecto hacen el siguiente comentario: "Con anterioridad ya habíamos observado que durante este mes no habíamos tenido apenas o ningún éxito al tratar de aislar cepas murinas. Hemos pensado que este fracaso debe tener cierta relación con las condiciones climatológicas, pues las cepas tíficas conservadas en *stock* siempre perdían algunas de sus características durante la estación estival." Es algo difícil armonizar estos hechos, pues precisamente en los meses de verano es que más abundan los casos humanos de tifus murino en Puerto Rico.

Al cobayo número 65 se le inoculó intraperitonealmente con masa cerebral de la rata número 550, la cual había dado reacción complementaria negativa con antígeno rickétsico murino.¹⁴ Dicho cobayo (núm. 65) tuvo fiebre alta (41.3° C) con intensa inflamación del escroto al décimo día de haber sido inoculado, y dió reacción franca positiva de fijación complementaria. Durante el primer día la reacción escrotal presentaba el aspecto típico de la que se observa generalmente en la infección tífica murina. Al segundo día, sin embargo, apareció una pequeña ulceración superficial en el lado izquierdo del escroto, que fué agrandándose paulatinamente hasta que acabó formando una costra. Toda la envoltura escrotal estaba engrosada y prominente. A los seis días de comenzar la inflamación, la piel que cubría el pene se puso muy edematosa y enrojecida.

Al cobayo número 64 se le inocularon intraperitonealmente 2 cc. de sangre de la misma rata anterior (W. R. núm. 550). En este cobayo la elevación térmica no pasó de 39.7° C, pero al igual que el número 65, tuvo reacción inflamatoria escrotal, sin ulceración. En el grab. 1, aparecen los distintos aspectos de la inflamación del escroto en ambos animales.

El Dr. H. R. Cox sometió a comprobación los sueros de los cobayos números 64 y 65, realizando pruebas de fijación de complemento con el antígeno soluble de fiebre de las Montañas Rocosas, obteniendo los resultados siguientes: cobayo número 64, con reacción negativa antes de la inoculación; a los veinte días después de inoculado, reacción positiva (+ + + +) en diluciones de 1:4 y 1:8. En el cobayo número 65 no se llevó a cabo la reacción de fijación antes de inocularle; a los veinte días de inoculado la reacción de fijación de complemento fué positiva (+ + + +) en diluciones de 1:4 y 1:8, y con ++ en dilución de 1:16. Estamos investigando la posibilidad de que exista esta enfermedad entre las ratas realengas de Puerto Rico.

Ejecutadas repetidas veces las pruebas de fijación de complemento con antígenos de cepas murina y epidémica en los cobayos números

14. Suministrado generosamente por el Dr. H. R. Cox, de los Laboratorios *Lederle*, de *Pearl River, N. Y.*

64 y 65, los resultados fueron negativos, y sus masas encefálicas, inoculadas a las ratas blancas, no lograron reproducir la infección murina. No pudimos esta vez inocular conejillos, porque no conseguimos ejemplares machos. En las investigaciones anatomopatológicas realizadas (Dr. E. Koppisch), no se descubrieron alteraciones cerebrales, ni en otros órganos de los cobayos, que pudieran ser atribuídas al tifus murino. Estas reacciones escrotales no específicas suelen ser muy engañosas y pueden conducir a error. Sin embargo, una prueba de fijación de complemento negativa indica que no se trata de una infección tífica.

Como se ve, ofrece grandes dificultades tratar de infectar ratas albinas y cobayos con orina procedente de animales inoculados experimentalmente. Y el fracaso de la inoculación que se observa en estos animales susceptibles, cuando se les inyecta orina de ratas capturadas durante la máxima incidencia de casos tíficos humanos, no está de acuerdo con la opinión corriente de que la orina de ratas infectadas es un medio ordinario de transmitirse la enfermedad de la rata al sér humano.

La sangre y el tejido cerebral, pero no la orina, de la rata número 523 reprodujo la leptospirosis típica en el cobayo; igual sucedió con la orina (no se inoculó masa encefálica), pero no con la sangre, de la rata número 541; y con la orina solamente (no se inoculó sangre ni cerebro) de la rata número 542 se transmitió la infección a los cobayos.

RECONOCIMIENTO

Por la bondadosa cooperación y ayuda que nos prestaron en el curso de nuestra investigación, según hemos expresado antes, queremos consignar aquí nuestras gracias a las personas siguientes: Dr. Norman H. Topping y Dra. Ida Bengtson, del *National Institute of Health*; el Coronel médico Harry Plotz y el Sr. M. J. Snyder de la Escuela de Medicina del Ejército de los EE. UU. en Washington; Dr. Enrique Koppisch, de la Escuela de Medicina Tropical de la Universidad de Puerto Rico; y Dr. H. R. Cox de los laboratorios *Lederle*, de *Pearl River, N. Y.* Queremos asimismo expresar nuestro reconocimiento de manera especial al Dr. Charles Armstrong, por habernos permitido observar las técnicas y procedimientos referentes a las investigaciones sobre rickettsias que se realizan en la División de Enfermedades Infecciosas, del *National Institute of Health* en *Bethesda, Maryland*.

Ayuda técnica, muy valiosa, nos fué prestada por el Sr. Antonio Puras, auxiliar del Dr. Koppisch.

R. L. trad.