

La trasmisión experimental de la fiebre amarilla.

POR EL DR. PEDRO PEREZ GROVAS.

A MEDIADOS del mes de julio pasado, el comisionado especial para la campaña contra la Peste Bubónica que por entonces hizo su aparición en Veracruz, recibió aviso de que se habían presentado casos de fiebre amarilla en el puerto. La desaparición de esta última enfermedad que por tantos años azoló a la ciudad endémicamente, el recrudecimiento del paludismo en los últimos años y el buen deseo de no tener que añadir una calamidad más, hicieron que el jefe de la campaña, Dr. D. Octaviano González Fabela, se eximiera de dar la noticia antes de tener la comprobación microbiológica, aun cuando clínicamente era indudable que se trataba de la olvidada enfermedad. Los recientes trabajos del Dr. Noguchi, del Instituto Rockefeller, de Nueva York autorizaban a esperar en el éxito de estas investigaciones, a pesar de no estar demostrada de manera innegable la parte que le corresponde en la etiología del padecimiento de la *Leptospira icteroides*.

En persona el Dr. González Fabela auxiliado por el Sr. Julián González Méndez y por mí, que lo había acompañado como bacteriólogo de la comisión, principió a hacer inoculaciones intraperitoneales de sangre de enfermos, a cuyes de distintos tamaños que despues eran observados cuidadosamente. Más tarde, el Sr. Julián González Méndez y yo, continuamos estas investigaciones, que han permitido a la postre el aislamiento y cultivo de la *Leptospira icteroides* y me parece que la demostración del papel etiológico del citado germen con respecto a la fiebre amarilla.

Esas primeras investigaciones, a mi parecer las más demostrativas, son las que informan esta comunicacion; más tarde, y ya con una mayor experiencia en los trabajos, con mayores elementos y tiempo suficiente para hacerlos, el éxito obtenido en la trasmisión experimental de la enfermedad al cuy, ha sido mucho más frecuen-

te, pero creo que los primeros datos obtenidos, acaso un poco incompletos, bastan para dar idea del asunto. Como se verá, solo dos casos de catorce fueron positivos; en las investigaciones subsecuentes, poniendo al cuy en las mejores condiciones posibles de receptividad, inyectándole mayor cantidad de sangre, el número de cuyes infectados llegó a ser de tres por cada siete inoculados. Pero las curvas térmicas y caracteres clínicos del padecimiento, en nada difieren de los que a continuación presento.

Gran parte de los trabajos, especialmente de orden clínico, han sido hechos con la colaboración del Dr. Mauro Loyo y después con la de los Dres. Juan Solórzano Morfín, Carlos Rodríguez Mendoza y Alfredo Iglesias, quienes con gran desinterés me han prestado su valiosa ayuda. Que estas líneas sirvan para expresarles mi agradecimiento, lo mismo que a los Dres. Malda, Pruneda y Graham Casasús, Presidente y Secretario del Departamento de Salubridad General de la República, los dos primeros, y Jefe de la campaña contra la fiebre amarilla el último, por el empeño que tomaron en la prosecución de las investigaciones.

*
* *

Presento las curvas térmicas de cuyes de cada una de las siguientes experiencias:

1ª—Trasmisión de la enfermedad al cuy.

2ª—Paso en serie en el cuy.

3ª—Paso de cultivo a cuy.

Aunque son de sobra conocidos los síntomas y lesiones de la fiebre amarilla, quiero hacer hincapié en algunos puntos, primeramente por tratarse de una enfermedad, que a mi parecer, es única en presentar tan grandes analogías en especies tan separadas como el hombre y el cuy y después porque algunas lesiones que Pareja y Noguchi encontraron con gran frecuencia en la epidemia de Guayaquil han sido poco observadas por médicos veracruzanos, cuando menos en la actual epidemia del puerto. No creo, sin embargo, que se haya dicho la última palabra en este asunto, siendo de esperar por el contrario, que un estudio más profundo de la enfermedad, especialmente en sus formas benignas y ligeras, tales como es habitual ver en los niños, cambie de manera notable nuestros conocimientos, o por lo menos, los complete en forma que puedan diagnosticarse infinidad de formas que hoy pasan inadvertidas.

De los síntomas de la enfermedad en el hombre o en el cuy, los más característicos y constantes son: la fiebre, la ictericia, las hemorragias y las perturbaciones urinarias.

La fiebre se inicia en ocasiones con uno o varios calosfríos tan intensos, que simulan el calosfrío de la malaria; pero con frecuencia la temperatura se eleva sin haber sido precedida por molestias de ninguna clase, como sucede especialmente en los niños. Es por regla general muy alta los dos primeros días en que llega en ocasiones a 40° o más, pero en las formas benignas, ambulatorias pudiéramos decir y que creo bastante más frecuentes de lo que se supone, suele no pasar de $37^{\circ}5$ a 38° . Insisto en que éstas formas son extraordinariamente frecuentes en los niños, a los que apenas si ocasiona molestias que ameriten su permanencia en la cama, que difícilmente son diagnosticadas y por lo tanto dejan a los enfermos en amplia libertad de seguir diseminando el mal, pero suficientes, sin embargo, para establecer en ellos una inmunidad más o menos durable. A partir del tercer día la fiebre tiende a disminuir, cuando menos en la epidemia actual de Veracruz. Este descenso de la temperatura no tiene en la generalidad de los casos relación alguna con la gravedad del padecimiento, como han señalado autores franceses desde hace algunos años. Con frecuencia en los dos últimos días de la enfermedad, cuando esta dura seis o siete, hay hipotermia, que va acentuándose hasta la muerte. Este fenómeno ha sido señalado en el cuy por el Dr. García Rendón. Si se examinan las curvas térmicas de los cuyes infectados, se verá que la fiebre tiene las mismas características que en el hombre.

La ictericia es por regla general muy acentuada y aparece, si no muy precoz, al tercero o cuarto día del padecimiento, con tendencia a acentuarse para ir desapareciendo lentamente después. Sin embargo en algunos casos es muy ligera, sin que pueda hallarse tampoco relación entre su intensidad y la gravedad de la dolencia. Pueden encontrarse pigmentos biliares en la orina y en los órganos en cantidad más o menos grande, en todos los casos de fiebre amarilla. La duración total de la ictericia es difícil de ser precisada siquiera con alguna aproximación. Hay enfermos en quienes puede encontrarse la pigmentación de los tegumentos y la orina, hasta cuatro o cinco semanas después de su aparición. Pero los hay también que dejan de tener pigmento una semana o diez días después de la aparición de la fiebre. Se puede resumir todo lo anterior en esta frase: Solo en las formas sumamente benignas puede verse alguna relación entre la fiebre y la ictericia con la benignidad del padecimiento; en las formas de alguna seriedad, ni una ni otra tienen relación con la gravedad del caso.

Las hemorragias son constantes: en el pulmón bajo forma de pequeños islotes de sangre extravasada; en el estómago e intestino delgado son a veces tan abundantes que llenan la cavidad y producen la melena y el síntoma clásico el «vómito negro», este último no

tan frecuente como pudiera suponerse; en el hígado, donde son por lo regular poco abundantes y se hacen al rededor de los vasos. Menos comunes son las hemorragias del intestino grueso y del riñón, que sin embargo presenta en ocasiones grandes infartos. Las epistaxis y la púrpura se ven mucho más raramente. La última ha sido citada en el cuy por el Dr. García Rendón.

Las perturbaciones urinarias son también constantes: Durante los primeros días de la enfermedad la orina disminuye en cantidad, sobre todo al partir del tercero o cuarto día y más en las formas graves que en las benignas, pero pudiendo encontrarse en éstas en no mayor cantidad de 200 a 500 c. c. Puede decirse que es el síntoma más en relación con la gravedad del padecimiento. A partir de la segunda semana en los casos en que el enfermo sobreviva, la cantidad de orina aumenta hasta alcanzar su cifra normal o más, (bien en forma de crisis poliúrica o bien de una manera lenta.) La albúmina aparece en el tercero o cuarto día de la enfermedad con tendencia a aumentar durante dos o tres días, para disminuir después hasta su desaparición completa a las veces hasta después de tres o cuatro semanas.—La cantidad de albúmina es muy variable de un enfermo a otro siendo frecuente encontrar formas muy benignas con intensa albuminuria o muy graves con una albuminuria ligerísima y fugaz. En esta última epidemia de Veracruz, se han señalado enfermos en cuya orina un sólo día pudo encontrarse albúmina en muy pequeña cantidad, o que tenían huellas durante dos o tres días.

De las lesiones anatómo-patológicas, las del hígado y riñón son verdaderamente peculiares. La degeneración grasienta del primero de dichos órganos es precoz y extensa, variable naturalmente con la duración total de la enfermedad y su gravedad; quiero hacer observar aquí, que ni en los enfermos ni en el cuy, han señalado los médicos veracruzanos la abundancia de islotes necróticos que hallaron en la fiebre amarilla de Guayaquil los Dres. Pareja y Noguchi. En los riñones se encuentran los glomerulos más o menos inyectados; el epitelio de los tubos contorneados muestra siempre el citoplasma degenerado y las cavidades llenas de cilindros hialinos o granulados. En ocasiones se encuentran infartos hemorrágicos. Ya he señalado la presencia constante de islotes hemorrágicos en el pulmón.

TRASMISION EXPERIMENTAL DE LA FIEBRE AMARILLA AL CUY.

Las primeras investigaciones comprenden catorce cuyes inoculados con sangre de enfermos de fiebre amarilla, tomada directamente de las venas durante los días primero, segundo y tercero de la enfermedad. La inoculación fué en todos los casos intraperito-

neal y en cantidad que varió de 1 a 5 c. c. de sangre. Los cuyes inoculados eran aislados en pequeñas jaulas protegidas por tela de alambre de malla fina, y observados cuidadosamente durante 25 a 30 días teniendo cuidado de tomarles temperatura a mañana y tarde. De estos catorce primeros cuyes inoculados, solamente el noveno y el decimocuarto se infectaron, ya he dicho que más tarde y ya con mayor experiencia en ésta clase de trabajos, logramos obtener tres cuyes infectados de cada 7 poniéndoles en las mejores condiciones posibles de receptividad, aumentando la cantidad de sangre inyectada, escogiendo animales jóvenes etc. El primer cuy en el que logramos producir la enfermedad experimental fué el "Pinto negro" cuya curva térmica puede verse adjunta:

Después de un pequeño ascenso térmico durante el día que siguió al de la inoculación la temperatura se mantuvo en los límites normales los dos días que siguieron; el animal estaba bien. Al finalizar el cuarto día hubo un calosfrío inicial intenso que como se verá ha podido ser sorprendido en varios animales y la temperatura se elevó bruscamente a 40 grados; se mantuvo elevada durante 3 días: oscilando al rededor de 39° 5 y bajó después a la normal los días 5 y 6 del padecimiento; volvió a subir a 39° 6 la tarde del día 29 de julio, para descender nuevamente hasta que ocurrió la muerte.

En este cuy se dejaron pasar los primeros días sin intentar el paso en serie o en cultivo. Pocas horas antes de la muerte se sangró para inocular dos cuyes más y sembrar la sangre en el medio especial descrito por el profesor Noguchi sin haber obtenido resultados positivos. Apareció una ligera ictericia al cuarto día de la enfermedad y melena al quinto. Durante los primeros días el animal comía bien y la orina emitida en las 24 horas alcanzó su cifra normal. En los tres días que precedieron a la muerte, cuando la temperatura comenzó a descender, se presentó la anorexia y la cantidad de orina fué disminuyendo.

La autopsia demostró las lesiones conocidas de la fiebre amarilla. El hígado estaba pequeño amarillento y muy friable. El pulmón tenía un abundante puntilleo hemorrágico y los intestinos y el estómago profusas hemorragias. La piel y las vísceras se veían ligeramente infiltradas de pigmentos biliares. La duración total de la enfermedad de la inoculación a la muerte, fué de 11 días.

El enfermo que suministró la sangre con que fué inoculado este animal, fué Leandro López natural de Ixtlán, Nayarit. de 20 años de edad, que ingresó al Hospital "Aguiles Serdán" el día 20 de julio del corriente año, durante el tercer día de su enfermedad; fué dado de alta el día 6 de agosto. Apareció la ictericia bastante intensa a partir del tercer día, y albumina el segundo. Todavía al

dársele de alta estaba ligeramente icterico pero había desaparecido la albumina de la orina desde hacía una semana.

El día 27 de julio, fué inoculado el segundo cuy en que pudo reproducirse la enfermedad experimental, con sangre del enfermo Casimiro García durante el segundo día de su padecimiento. La inoculación fué también intraperitoneal, de dos y medio c. c. de sangre tomada de la vena. Como en el cuy anterior, hubo un ascenso térmico el día que siguió a la inoculación, ascenso que se encuentra en casi todos los casos de inoculación de sangre humana, y fácilmente atribuible a la absorción de ésta; bajó la temperatura a la normal desde el tercer día y se mantuvo así hasta la tarde del quinto en que tuvo un brusco ascenso, sin que se haya sorprendido en éste caso el calosfrío inicial. Todavía subió ligeramente la temperatura, el sexto día, segundo de la enfermedad y el séptimo. La tarde de ese día la temperatura comenzó a descender de una manera lenta hasta el día que precedió al de la muerte en que hubo un ligero ascenso. La ictericia apareció durante el cuarto día de la enfermedad primero muy ligera pero acentuándose rápidamente a medida que la temperatura descendía. Al ocurrir la muerte, el cuy tenía un color intensamente amarillo en la piel, las mucosas y especialmente las conjuntivas. Como en el caso anterior, el cuy estaba comiendo bien los primeros días a pesar de la fiebre y dejó de hacerlo al aparecer la ictericia. La orina disminuyó notablemente a partir del mismo día y hubo melena casi simultáneamente. La muerte acaeció el séptimo día. En la autopsia pudo apreciarse la coloración intensamente icterica de la piel y órganos: el hígado estaba pequeño y amarillo-verdoso, el estómago completamente distendido por sangre que también había en el intestino delgado y riñón; los pulmones mostraban igualmente abundantes islotes hemorrágicos. Los cortes del hígado mostraban una intensa degeneración grasienta de los elementos, con especialidad al redor de los pequeños vasos y los del riñón, las celdillas glomerulares vacuoladas y los tubos llenos de cilindros. La duración de la enfermedad en éste animal fué de once días, de los cuales fueron 4 de período de incubación. Al notarse la ictericia, es decir al cuarto día de la fiebre tomé dos centímetros cúbicos de sangre del corazón para inocular otro cuy y sembrar en el medio descrito por el doctor Noguchi y en uno con menor cantidad de agar. Tanto la siembra como la inoculación resultaron positivas.

El enfermo que suministrara la sangre para inocular a este animal fué Casimiro García, de España, fué sangrado al comenzar el segundo día de enfermedad.

PASO EN SERIE EN EL CUY

Una vez obtenida la enfermedad experimental en el cuy, puede considerarse asegurada la conservación del virus por paso sucesivo en éste animal. El día 3 de agosto fué sangrado el cuy anterior e inoculado el segundo de la serie con $\frac{1}{4}$ de c.c. de sangre total. La inoculación se hizo intraperitoneal, con la sangre directamente tomada del corazón. Antes de hacer la inoculación se sometió la sangre al examen ultramicroscópico, sin haber obtenido la evidencia de que tuviera parásitos. Hubo como en el caso anterior un ligero ascenso térmico inmediatamente después de la inoculación, pero fué pasajero y poco marcado; al finalizar el tercer día la temperatura era un poco inferior a la normal y había ligeros callosfríos. Ya el cuarto día se inició un ascenso que llegó a su máximo durante la mañana del 5o. y después descendió rápidamente hasta la muerte que ocurrió el séptimo día a contar de la inoculación. El sexto día y casi bruscamente apareció la ictericia muy acentuada, acompañada de anorexia absoluta y á completa anuria. El tinte de los tegumentos era de un color verde olivo y las conjuntivas estaban intensamente amarillas. El animal permaneció en un rincón de la jaula, con el pelo erizado, desde que la temperatura comenzó a elevarse. Fué sangrado del corazón, para inocular otro cuy, sembrar y observar la sangre en preparación ultramicroscópica encontrando en ella numerosas leptospiras, lo mismo que en los frotos de hígado y bazo. En la autopsia se encontró, aparte de las lesiones ya descritas en los animales anteriores, una intensa ictericia de los órganos.

El día 9 de agosto, fué inoculado el tercer cuy de la serie, con un cuarto de c.c. de sangre del segundo, tomada del corazón inmediatamente después de la muerte. Hubo como en los cuyes anteriores un ligero ascenso térmico el día que siguió a la inoculación y, uno muy pronunciado al comenzar la enfermedad, después de tres y medio días de incubación. La temperatura se elevó a 41° C., persistiendo alta, pero con tendencia a descender, hasta el tercer día de enfermedad en que apareció la ictericia y una abundante melena. Siguió descendiendo hasta muy abajo de la normal durante los días subsecuentes que precedieron a la muerte, ocurrida el quinto día de la fiebre. Como puede notarse, la muerte en hipotermia, es frecuente, cuando menos en los animales. La autopsia demostró especialmente una hemorragia enorme en el intestino grueso. Este animal fué sangrado del corazón el día que apareció la ictericia, para inocular dos, sembrar y hacer la investigación que dió resultado negativo.

De los dos cuyes inoculados en cuarto lugar con sangre del an-

terior uno fué enviado a México, al Instituto Bacteriológico en donde se continua aun la serie. En estos dos animales, inoculados con $\frac{1}{4}$ de c.c. de sangre, las curvas de temperatura, la duración de la enfermedad y del periodo de incubación y hasta el calosfrío inicial intenso acompañado de descenso de la temperatura rectal, son sumamente parecidos. Las lesiones anatomopatológicas, fueron como las descritas en los cuyes anteriores. En éste cuy, pude observar por primera vez, las epistaxis descritas ya por el Dr. Noguchi.

REPRODUCCIÓN DE LA FIEBRE AMARILLA EN EL CUY POR INYECCIÓN DE CULTIVO.

El día 19 de agosto fué inoculado un cuy pequeño con $\frac{1}{4}$ de c.c. de cultivo de *Leptospira Icteroides* de veintiun días. La inoculación fué intraperitoneal y no se notó como en los cuyes anteriores inoculados con sangre de enfermos, ya cuyes, ya hombres, el ascenso de temperatura al día siguiente de la inoculación. Al finalizar el segundo día la temperatura descendió, pero al siguiente comenzó a ascender nuevamente hasta 39° 1. Inmediatamente descendió hasta la muerte que ocurrió el segundo día de enfermedad. La siembra de sangre de este animal, permitió el cultivo, puro del germen y la investigación ultramicroscópica fué positiva. Los frotis de hígado y riñón, mostraban abundantes leptospiras.

El día 8 de septiembre se inoculó un nuevo cuy intraperitonealmente con cultivo de veinte días de *Leptospira Icteroides*. Es este el primer animal en que se observa el tipo febril intermitente diario, con elevación térmica matutina. La curva de temperatura es enteramente demostrativa y explica la desconfianza que debe tenerse para el diagnóstico de la enfermedad basándose en los caracteres de la fiebre solamente. La ictericia apareció al tercer día de fiebre y fué acentuándose hasta la muerte. Las lesiones anátomo-patológicas son idénticas a las descritas y la sangre y frotis de las vísceras, tenían abundantes parásitos. La siembra de sangre dió cultivo puro.

El cultivo usado en la inoculación del cuy anterior, sirvió para inocular otro cuy el día 20 de septiembre, es decir, doce días, después, cuando el cultivo tenía 5 semanas, con el objeto de determinar las variaciones de virulencia que pudiera sufrir, y si el tipo febril observado, se reproducía con el mismo cultivo en todos los animales en experiencia. La curva térmica de este animal, es análoga a las descritas en los primeros animales inoculados. No se produjo la fiebre intermitente ni disminuyó en éste tiempo la virulencia del cultivo. La ictericia apareció el tercer día de fiebre y la muerte sobrevino el quinto. Las lesiones fueron idénticas a las ya descritas.

CONCLUSIONES

La Fiebre Amarilla puede ser transmitida experimentalmente al cuy, por inyección intraperitoneal, de sangre del enfermo, tomada durante los tres o cuatro primeros días de la enfermedad. Puede considerarse que de cada siete animales inoculados, tres contraen el padecimiento sobre todo, si se tiene el cuidado de usar animales pequeños, mal alimentados en los días que preceden a la inoculación y a los cuales se inyecta una dosis suficiente de sangre infectante. La cantidad de sangre usada por mí en la gran mayoría de los casos, fué de dos a tres c.c..

De la sangre de enfermos de fiebre amarilla, sean hombres o sean cuyes, sembrada en el medio de cultivo y con la técnica descrita por el Dr. Noguchi, puede obtenerse el cultivo puro del germen que el médico citado llamó *Leptospira Icteroides*. El germen aislado en Veracruz, tiene los mismos caracteres que el encontrado por Noguchi en la fiebre amarilla de Guayaquil.

La enfermedad experimental puede ser transmitida en serie indefinidamente, mediante inoculaciones hechas por los procedimientos descritos. El paso de la *leptospira icteroides* por el organismo del cuy, exalta la virulencia del parásito para éste animal, pudiendo obtenerse un notable acortamiento del periodo de incubación y de la duración total de la enfermedad.

Los cultivos del parásito son patógenos para el cuy, ya sean obtenidos de hombre o de cuy, y reproducen en este animal la enfermedad con todos sus caracteres. Hasta éstos momentos no he podido tener un solo animal que haya curado, quizá debido a que el cultivo no ha envejecido bastante.

La enfermedad experimental en el cuy es análoga en sus síntomas y lesiones a la enfermedad natural en el hombre. Raras enfermedades experimentales tienen caracteres tan semejantes en las dos especies.

México, septiembre de 1920.



Le médecin des tuberculeux doit être patient; il doit être bon, dévoué; il doit être ferme et parfois sévère; il doit être le guide infaillible de tous les instants. Il doit enfin avoir le don de la persuasion.

Rénon.