

Tifus exantemático I

La infección experimental de animales de laboratorio con la sangre de enfermos de tifus exantemático de Bs. Aires, Córdoba y Santa Fe

Por A. SORDELLI, A. MANZULLO, M. A. RIESEL y J. FERRARI

Desde el mes de enero del corriente año fué realizada la investigación del agente del tifus exantemático en la sangre de los casos humanos en forma intensiva; al mismo tiempo se proseguían los estudios iniciados hace varios años en el Instituto acerca de la existencia del virus en la naturaleza, en artrópodos y en ratas.

Los resultados obtenidos no son suficientemente claros para considerarlos definitivos, pero como tienen algún interés local hemos juzgado conveniente comunicarlos en esta y otras notas que seguirán en breve.

Como antecedente de la literatura argentina del tema, recordaremos el trabajo de J. A. Zuccarini quien ha aislado una cepa de *Rickettsia* de un enfermo (1).

En la iniciación de estos estudios, hace varios años, teníamos formada una idea relativamente simple y esquemática de los hechos que podían aparecer en el curso de su realización, pues los datos de la epidemiología y de la clínica de los casos de tifus exantemático ocurridos en Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba indicaban que el virus de nuestro país debía corresponder al tifus murino.

La literatura revela, que muy frecuentemente, de casos de tifus de la zona meridional del este de Estados Unidos y de los límites de ese país con Méjico, y de los del mismo Méjico, es fácil obtener por la inoculación de la sangre de los enfermos, a los cobayos, una infección aparente por dos signos de fácil apreciación, cuales son la curva térmica y el fenómeno de Neill Mooser.

Neill en 1917 (2) de casos de tifus de El Paso y de Laredo obtiene cepas que dan el fenómeno escrotal y la reacción térmica y

Maxcy en 1926 ⁽³⁾ aísla el virus de casos de Savannah y Montgomery. En 1928 ⁽⁴⁾ Mooser con sangre del 7º día de enfermedad obtiene una cepa que da en el cobayo las reacciones típicas del tífus murino.

Había sin embargo en nuestro caso una dificultad relativamente seria, por cuanto el material que podíamos inocular provenía de casos cuya evolución ya era muy avanzada y de acuerdo con la literatura, es muy difícil el aislamiento y el reconocimiento de la existencia del virus tífico en la sangre de tales enfermos.

A pesar de la poca probabilidad de obtener resultados, proseguimos los estudios, inoculando aquellos materiales que nos parecían más adecuados y reinoculando en serie los órganos de los animales un poco a ciegas, pues la mayor parte de ellos no presentaban ninguna reacción significativa. Hemos recurrido a algunos artificios para poner de manifiesto las reacciones que se consideran características, y hemos procurado obtener como prueba objetiva la presencia de *Rickettsia* en forma tan clara y evidente que no quedara duda respecto de la seguridad del hallazgo.

Por razones inherentes a la forma en que realizábamos el trabajo y a la naturaleza del problema, no hemos procedido con un método que puede ser considerado irreprochable, pero, por lo menos el tiempo y los experimentos malogrados sirven como enseñanza para el desarrollo futuro de esta clase de estudios en el Instituto Bacteriológico.

I

El material. — En la mayor parte de las veces estuvo constituido por sangre de pacientes con más de 7 días de enfermedad, y en la que ya había anticuerpos revelables por la reacción de Weil Felix. Se empleó en general sangre citratada que fué utilizada después de algunas horas de extraída hasta 3 días después de su obtención por punción venosa; durante este tiempo permaneció a temperatura ambiente. En cuatro casos la sangre fué de enfermos de primera semana. La cantidad inyectada fué de 3 a 4 cm³ por cada animal, salvo en un caso en que fué bastante menor.

Animales utilizados. — Se han empleado cobayos machos de 300 gramos, del criadero del Instituto que son alimentados permanentemente con verdura fresca (coles en su mayor parte) y afrecho a

discreción. Las ratas también son criadas en el Instituto y son alimentadas con una dieta completa (*).

Condiciones experimentales.— La vía de inoculación fué siempre la peritoneal.

Los animales fueron conservados en jaulas con mucha paja y bien alimentados.

La temperatura ambiente fué en los meses de verano muy elevada (**). Desde abril fué próxima a los 15-22°.

La observación consistió en registrar la temperatura en la mañana, observar los fenómenos de inflamación escrotal, examinar la esterilidad de la sangre e investigar *Rickettsias* en el raspado de la vaginal parietal, preferentemente.

En ningún momento hemos podido elegir un tiempo como el más oportuno para sacrificar los animales y realizar el pasaje, pues fueron los hechos aparecidos aisladamente y casi sorpresivamente, los que determinaron en general la conveniencia de hacer el pasaje.

El material utilizado para el pasaje estuvo constituido por cerebro, bazo y suprarrenal y en algunos casos la vaginal; ésta fué siempre utilizada cuando había algún fenómeno de inflamación escrotal. La cantidad inoculada fué siempre grande y las emulsiones fueron muy espesas (más o menos 20 %); el líquido de dilución empleado fué la solución fisiológica con 5 % de caldo.

No se realizó ningún examen histopatológico, pues siempre esperábamos obtener signos de infección más constantes y más aparentes,

(*) La comida que se les da diariamente está constituida por una pasta, que al enfriarse se solidifica, formada por maíz integral 6300 grs., trigo integral 2100 grs., afrecho de trigo 1200 grs., polvo de leche descremada 2100 grs., repollo 1000 grs., hígado 600 grs., carnaza 600 grs. Esta mezcla se cocina con 22 litros de agua a la temperatura de 80° durante una hora más o menos. A cada animal se le da prácticamente más de lo que puede comer, es decir que siempre hay exceso en las jaulas. Diariamente también se les da lechuga y agua para bebida. Durante la cría a las madres en las tres primeras semanas, se las alimenta con pan duro y un cocido de harina de maíz en leche fresca.

(**) La temperatura máxima del mes de enero ha sido de 35,4° y el promedio de las máximas de 31,7°. La mínima ha sido de 13,5° y el promedio de las mínimas de 19,4°. El promedio general de este mes es de 25,1°.

En el mes de febrero esas temperaturas son de 36,6°, 29,4°, 9,6°, 18,5°. El promedio general es de 23,6°.

En el mes de marzo son 36°, 25,9°, 7,3° y 14,8°. El promedio general es de 20°.

y como esto no fué logrado hasta este momento, nada podemos decir de la histopatología de las lesiones provocadas por el virus en los animales de laboratorio.

Por las circunstancias de disponer de sangre de enfermos en un período avanzado de su evolución cuando ya había anticuerpos circulantes, hemos utilizado la técnica de Giroud (7) que este autor ha empleado para revelar la presencia de virus en la sangre de los cobayos, después de pasado el período febril (22 a 30 días desde la inoculación) y que consiste en separar las células de la sangre, del suero, dando así oportunidad a que los elementos infecciosos que aún persisten no sean neutralizados por los anticuerpos contenidos en los humores (*).

La ausencia de signos macroscópicos de lesiones que son característica del tifus murino, y la escasez de Rickettsias en las preparaciones hechas con la vaginal de los raros animales con signo de Neill Mooser, nos hizo utilizar el procedimiento empleado por Mooser, Varela y Pilz en 1934 (5) y por Varela y Gay en 1934 (8) que consiste en inyectar todos los días por vía peritoneal sangre estéril de cobayo. De acuerdo con los autores al cabo de los cinco días las ratas suelen presentar fenómenos de enfermedad aparente y pueden morir; en el exudado vaginal y peritoneal de las ratas se encuentran Rickettsias en mayor cantidad; los cobayos presentan el fenómeno de Neill Mooser con mayor frecuencia.

Además hemos empleado para obtener la demostración más fácil de las Rickettsias el procedimiento aconsejado por Zinsser y Castañeda en 1932 (9) que consiste en irradiar ratas con 170 KV durante 1 hora con 10 «r» por minuto. Por razones de técnica hemos utilizado la modificación de Macchiavello (1935) (10) que consiste en irradiar las ratas con 120 KV y 4 miliamperes a la distancia de 40 cm. sin ningún filtro durante el tiempo de 35 minutos, o una dosis equivalente a una distancia menor. Los animales son observados a los cinco o seis días.

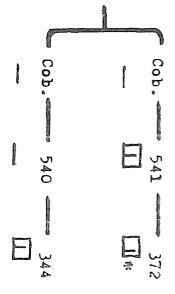
(*) No hemos podido ensayar hasta ahora la técnica aconsejada por Pinkerton y Bessey (6) que en el año 1939 utilizaron animales con deficiencia de vitamina B₂ que parece ser un método muy promisor.

| Pasaje | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|
|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|

1 (Tor.)

10°

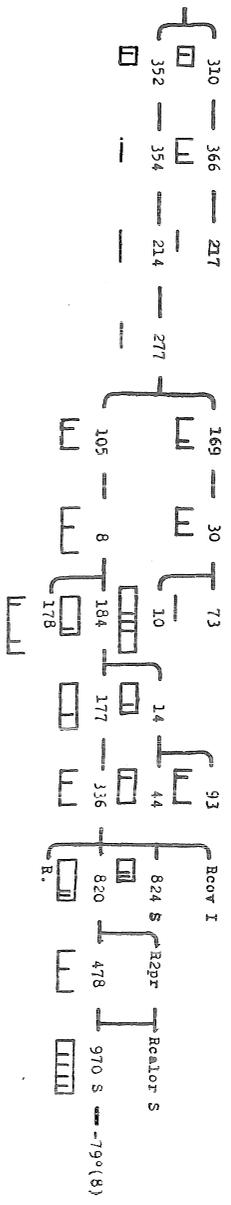
Sangre citratada del día de enfermedad
Prot. OX 19 1: 200



2 (Caffar.)

15°

Sangre citratada del día de enfermedad
Prot. OX 19 1: 200

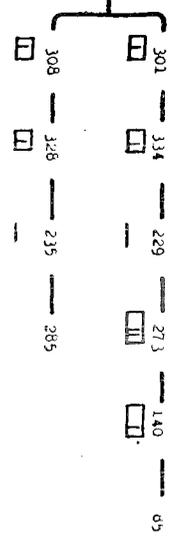


* 3 milímetros corresponden a 10 días.

Pasaje 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

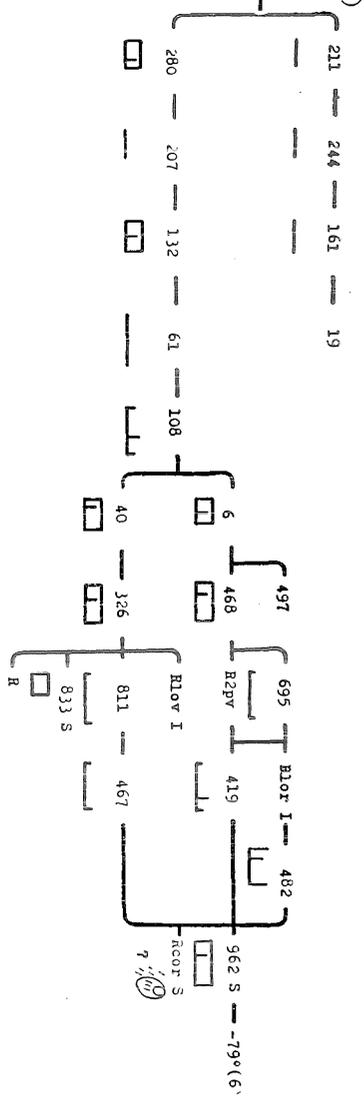
3 (Agnil.)

Sangre citratada del 7º día de enfermedad
Prot. OX 19 1: 200

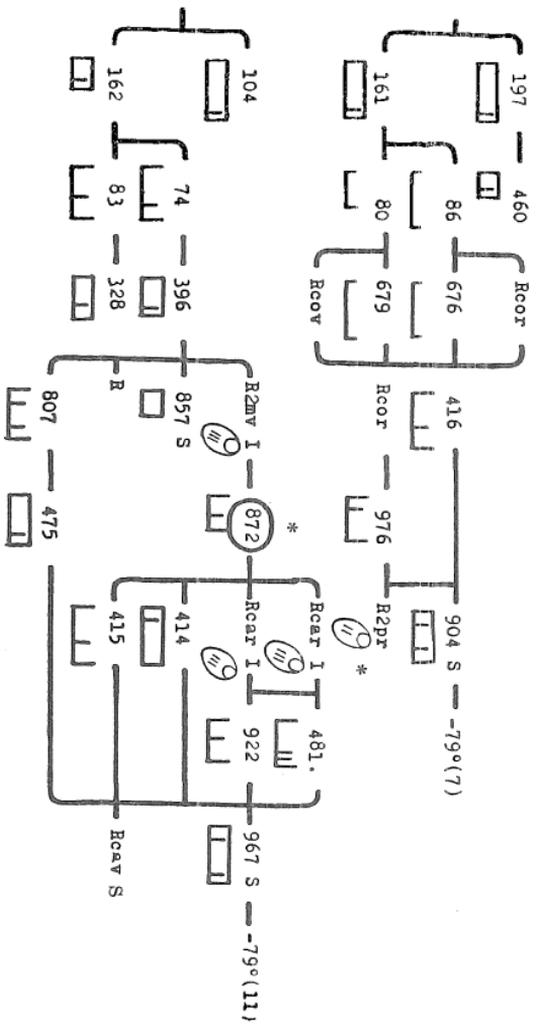


4 (Oern.)

Sangre citratada del 13º día de enfermedad
Prot. OX 19 1: 500



Sangre del 13º día de enfermedad
 Proteus OX 19 1: 1000
 Sangre lavada Sangre sin lavar

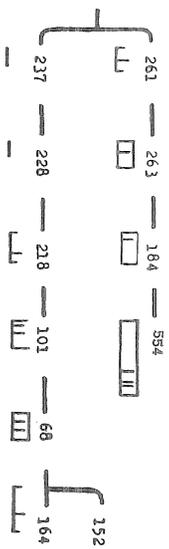


* El círculo encerrando al N° del cobayo indica fenómeno de Neill Mooser.
 El óvalo con un círculo interior y unas pocas líneas, la existencia de *Rickettsia*.

Pasaje 1 2 3 4 5 6 7 8 9

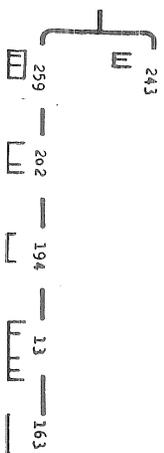
5 (P1.)

Sangre citratada del 10°
 dia de enfermedad
 Prot. OX 19 1: 1000

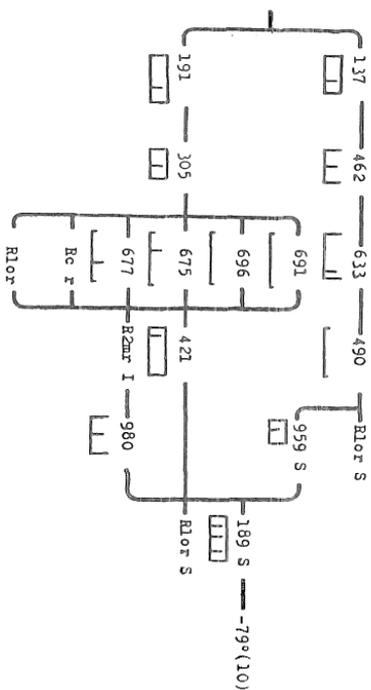


6 (Pag.)

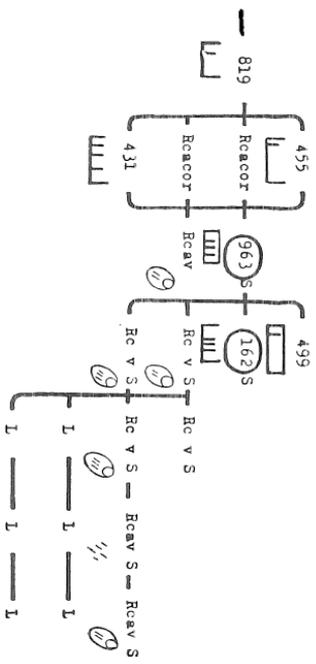
Sangre citratada del 11°
 dia de enfermedad
 Prot. OX 19 1: 1000



Sangre citratada del 7º día
de enfermedad
Prot. OX.19 negativo



Sangre citratada del 4º día
de enfermedad
Proteus OX 19 Negativo



| | FECHA | LUGAR | MATERIAL | INOCULADO A |
|----|------------------------|---|---|----------------|
| 1 | 14. I. 1942 | Cap. Federal | Sangre citratada del 10° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 200. | Cobayo |
| 2 | 27. I. 1942 | Santa Fe (El Trébol) . | Sangre citratada del 15° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 200. | Cobayo |
| 3 | 29. I. 1942 | Avellaneda (provincia de Buenos Aires) | Sangre citratada del 7° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 200. | Cobayo |
| 4 | 10. II. 1942 | Isla Maciel (provincia de Buenos Aires) | Sangre citratada del 13° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 500. | Cobayo |
| 5 | 11. II. 1942 | Capital Federal | Sangre citratada del 10° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 1000. | Cobayo |
| 6 | 12. II. 1942 | Dock Sud (provincia de Buenos Aires) | Sangre citratada del 11° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 1000. | Cobayo |
| 7 | 13. IV. 1942 | Santa Fe (El Trébol) . | Sangre lavada del 13° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 1000. | Cobayo |
| | 13. IV. 1942 | Santa Fe (El Trébol) . | Sangre sin lavar | Cobayo |
| 8 | 13. IV. 1942 | Santa Fe (Carlos Pellegrini) | Sangre lavada del 22° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 1000. | Cobayo |
| | 13. IV. 1942 | Santa Fe (C. Pellegrini) | Sangre sin lavar | Cobayo |
| 9 | 20. IV. 1942 | Santa Fe (Rigby) | Sangre citratada del 7° día de enfermedad. Prot. OX 19 1: 200. | Cobayo |
| 10 | 21. IV. 1942 | Santa Fe (Rigby) | Sangre citratada Prot. OX 19 negativo. | Cobayo |
| 11 | 29. IV. 1942 | Córdoba (Ucacha) | Sangre citratada del 6° día de enfermedad. Prot. OX 19 negativo. | Cobayo |
| 12 | 5. V. 1942 | Córdoba (Ucacha) | Sangre citratada del 4° día de enfermedad. Prot. OX 19 negativo. | Cobayo Rata |
| 13 | 28. V. 1942 | Capital Federal (Laboratorio) | Sangre citratada del 4° día de enfermedad. Prot. OX 19 negativo. | Cobayo |
| | Líneas negativas | | | |
| | Líneas positivas | | | |

* Los números entre paréntesis indican el pasaje en el cual apareció el signo de Neill-Mooser

| COBATOS | | | RATAS | | REACCIONES TÉRMICAS | | | | RICKETTSIAE EN | | RESULTADOS |
|------------|------------|-----------|------------|------------|---------------------|---------|-------------|--------------|----------------|--------------|------------|
| CON SANGRE | SIN SANGRE | PASAJES | IRRADIADAS | CON SANGRE | % NEGATIVAS | % DÉBIL | % POSITIVAS | NEILL-MOOSER | VAGINAL CAVIA | VAGINAL RATA | |
| 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 50 % | 0 | 50 % | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 2 | 22 | 12 | 1 | 1 | 20 » | 37 % | 41 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 0 | 8 | 5 | 0 | 0 | 25 » | 0 | 75 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 2 | 17 | 11 (11) + | 2 | 1 | 36 » | 15 » | 42 » | 0 | 0 | 1? | Positivo? |
| 0 | 10 | 6 | 0 | 0 | 50 » | 10 » | 40 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 0 | 6 | 5 | 0 | 0 | 33,3 » | 50 » | 16,6 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 2 | 13 | 8 (4) + | 2 | 1 | 0 | 53,3 » | 41 » | 1 | 0 | 2 | Positivo |
| 1 | 9 | 7 (6) + | 1 | 1 | 40 » | 20 » | 40 » | 0 | 0 | 1 | Positivo |
| 4 | 10 | 7 | 0 | 1 | 50 » | 7,1 » | 42,8 » | 1 | 1 | 1 | Positivo |
| 2 | 8 | 6 (4) + | 0 | 1 | 20 » | 30 » | 50 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 2 | 12 | 6 | 1 | 2 | 21,4 » | 35 » | 42,8 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 4 | 10 | 7 | 1 | 3 | 21,4 » | 42,8 » | 35 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 3 | 5 | 7 (5) + | 1 | 3 | 12,5 » | 50 » | 37,5 » | 1 | 0 | 0 | Positivo |
| 2 | 11 | 5 | 1 | 2 | 15,3 » | 46,1 » | 30,7 » | 0 | 0 | 0 | Negativo |
| 6 | 8 | 6 (3) + | 1 | 2 | 14,2 » | 35 » | 50 » | 1 | 1 | 2 | Positivo |
| 2 | 4 | 4 (3) + | 0 | 5 | 0 | 66,6 » | 33,3 » | 2 | 0 | 5 | Positivo |
| 12 | 93 | | 4 | 9 | 25,7 » | 31 » | 41,9 » | 0 | 0 | 0 | |
| 21 | 66 | | 7 | 14 | 24 » | 31 » | 42,5 » | 6 | 2 | 12 | |

o fueron observadas Rickettsias.

II

En los cuadros que ilustran este trabajo se encuentran protocolizados los resultados de la investigación con la sangre de 13 enfermos de los cuales solo cuatro se encontraban en condiciones óptimas para encontrar el virus, por tratarse de casos en los que aún no había aparecido una reacción humoral suficientemente intensa para ser revelada por la aglutinación del *Proteus OX₁₉*. Los signos utilizados son fáciles de interpretar y solo explicaremos los utilizados para la temperatura.

Como el cobayo normal en las condiciones de nuestras experiencias no tiene temperaturas superiores a 39,7° sino en muy raras ocasiones, hemos considerado que toda temperatura por encima de ésta tiene algún significado. Atribuimos significado definitivo a las temperaturas por encima de 40°. Los animales con temperaturas menores de 39,8° figuran solamente con una línea horizontal; aquellos con 39,8° y 39,9° con una línea horizontal y dos verticales en sus extremos; cuando la temperatura llega o pasa de los 40° se la indica con un paralelogramo. Los días de temperatura máxima figuran con una línea vertical. La longitud horizontal de cada una de estas representaciones gráficas indica el número de días transcurridos desde el de la inoculación hasta el del sacrificio del animal.

De los 13 casos examinados dos fueron de la provincia de Córdoba, 5 de Buenos Aires, 5 de la provincia de Santa Fe y uno de una infección de laboratorio; con estos 13 casos se han iniciado 16 líneas principales. Los resultados obtenidos pueden resumirse de la siguiente manera:

La reacción térmica ha sido evidente alguna vez en todas las líneas, pero en ninguna ha tenido significado definitivo, ni por la regularidad de su aparición en los distintos pasajes, ni por el momento en que apareció y menos por su duración, pues ella se ha hecho presente solo durante uno o dos días y pocas veces tres.

En 6 casos donde ha sido posible demostrar de manera concluyente la existencia de una infección por el fenómeno de Neill Mooser y por el hallazgo de *Rickettsias* en la túnica vaginal, ha habido infección inaparente en varios cobayos que han precedido a la experiencia en que se ha hecho el hallazgo irrefutable; solamente en un caso las temperaturas han sido significativas en los animales de los dos pasajes que han precedido al hallazgo de *Rickettsias*. Lo mismo puede decirse de la temperatura y de los otros signos de los cobayos que han seguido al hallazgo de *Rickettsias* o del fenómeno de Neill Mooser, pues en casi todos estos casos se han obtenido infecciones inaparentes.

El fenómeno de Neill Mooser.—Si consideramos las siete líneas que han permitido encontrar *Rickettsias* o el fenómeno de Neill Mooser como las únicas que han contenido el virus, vemos que el fenómeno de Neill Mooser se ha presentado alguna vez en cinco de ellas, lo que parece indicar que la tendencia del virus de los enfermos estudiados es semejante a la de los virus designados con el nombre de murinos, pero llama la atención la poca frecuencia con que el fenómeno escrotal se ha hecho presente en cada una de estas 7 líneas, pues en el total de estos animales examinados que es de 86, el fenómeno de Neill Mooser se ha hecho presente solo en 6 cobayos lo que da un porcentaje de 7 %, que no es muy superior al que se observa con ciertos virus de origen epidémico mantenidos en el laboratorio (*).

El hallazgo de Rickettsias.—La investigación de las *Rickettsias* fué efectuada por los métodos corrientes de tinción (Giemsa y Macchiavello) de extendidos hechos con raspado de la túnica parietal de la vaginal de los cobayos que presentaban el fenómeno de Neill Mooser y también de otros que tratados por sangre tenían mayor probabilidad de contener *Rickettsia* en el exudado vaginal.

Si consideramos solamente las líneas positivas, podemos decir que en el cobayo solamente se han hecho dos hallazgos de *Rickettsia* y que 7 han sido negativos, lo que indica una escasa pululación del organismo en la serosa o que el momento en que se le buscó no fué oportuno. Es muy probable que examinando un número grande de preparados y prolongando la revisión durante mucho tiempo se hubiera encontrado alguna que otra célula parasitada, pero no hemos cumplido estos requisitos y por tanto solo podemos decir que la cantidad de *Rickettsias* que se encuentra en los cobayos de los casos mencionados ha sido muy pequeña, tal como ocurre en general con el virus epidémico.

Como el principal y primer objeto de nuestro trabajo era demostrar la existencia de *Rickettsia* y conocer su naturaleza, consideramos necesario recurrir a los métodos de enriquecimiento.

Utilizamos con ese fin los dos procedimientos que hemos mencionado anteriormente, que consisten en el empleo de ratas sensibilizadas por irradiación y de ratas a las que se le inyecta sangre en los días que siguen a la inyección infectante. El método de Zinsser y Castañeda de la irradiación, en su modificación hecha por Macchiavello, no ha sido muy propicio, pues solamente ha dado resultados

(*) Esto parecería contradecir la idea de que el virus estudiado corresponde al tipo murino, pero no es nuestra intención ni siquiera sugerir tal cosa.

típicamente positivos en dos ocasiones y nos ha dejado con la duda de si los organismos que se ven son *Rickettsias* en otros 5 casos; ha sido negativo en tres.

Creemos que el método de la irradiación tiene el defecto que el mismo Macchiavello ha reconocido, y es la infección del peritoneo de la rata por microbios banales, cuya tinción se hace también por los procedimientos de investigación de *Rickettsia* y puede ser una causa de error en la demostración de tales organismos, en su forma libre.

Además las ratas suelen morir antes del tiempo indicado como más conveniente para la investigación, lo que hace inseguro a este procedimiento para demostrar la presencia de las *Rickettsias*.

Aplicamos de preferencia el método aconsejado por Mooser, Varela y Pilz y por Varela y Gay e inoculamos ratas y cobayos con sangre de estos últimos animales cinco días consecutivos, examinando la vaginal de las ratas y los cobayos al sexto día. Al mismo tiempo hemos aplicado este procedimiento para saber si la curva térmica de los cobayos inyectados alcanza a tener significado más claro que el de los animales no inoculados con sangre.

En 5 de las 6 líneas positivas se ha hecho el hallazgo de *Rickettsia* en animales tratados por sangre; en uno de los casos ha fracasado. En general no hay ninguna dificultad en la demostración de las *Rickettsias* por su gran número y porque no se ven bacterias libres.

III

Si consideramos que la demostración de las *Rickettsia* o el fenómeno de Neill Mooser son prueba de que existe una infección por *Rickettsia*, el número de veces que se ha encontrado el virus ha sido de 7 en un total de 16 ensayos que corresponden a 6 casos, sobre el total de los 13 examinados. No podemos decir que esa cifra sea la que corresponde a la frecuencia de la infección de la sangre en el momento en que se la extrajo, por cuanto cuatro líneas correspondientes a otros tantos casos, han sido insuficientemente estudiadas. La existencia de por lo menos una reacción térmica, en uno de los cobayos de todos los casos estudiados que no dan ni fenómeno de Neill Mooser ni *Rickettsia* en la túnica vaginal, podría sugerir la conclusión de que en todos los casos ha habido una infección por *Rickettsia* y que el método empleado o la técnica deficiente o los animales poco sensibles, han determinado un menor número de infecciones completas y significativas.

No tenemos suficiente experiencia de este asunto ni conocimientos suficientemente completos de la literatura y de la opinión no escrita

de los investigadores que se han ocupado de la materia, para poder afirmar que la sangre de un tifoso contiene siempre el virus durante la evolución de la enfermedad, y quizás cuando ya se ha iniciado la convalecencia o establecido la curación definitiva. Es natural que uno se sienta inclinado a seguir a los grandes investigadores que admiten que con gran frecuencia la infección tífica del hombre tiene carácter permanente.

Otro hecho de importancia para juzgar mejor lo que antecede fué la imposibilidad de propagar en serie la reacción térmica y el fenómeno de Neill Mooser, aún con gran cantidad de *Rickettsias* tanto por la inyección del material proveniente de la vaginal de animales con el fenómeno orquíptico y de ratas tratadas por sangre o la irradiación, de modo que es necesario admitir o una muy escasa virulencia de las cepas estudiadas o una resistencia particular de los cobayos que se emplean.

Aunque no puede ser invocado como argumento importante en favor de la poca virulencia de las cepas, debemos mencionar el hecho que ninguna de las ratas irradiadas ni tratadas por sangre ha sufrido muy aparente menoscabo en su salud, ni menos ha sucumbido a la infección, cosa que parece suceder con frecuencia con virus de tipo murino en otras partes del mundo (1).

IV

De los resultados expuestos en los cuadros aparece también un hecho interesante cual es el de la demostración de la existencia de

(1) Para aumentar la probabilidad del hallazgo hemos también aplicado la técnica aconsejada por Mooser, Varela y Pilz (5) de pasar el virus por rata y de cuya ejecución y bondades tuvo uno de nosotros conocimiento directo por razones circunstanciales en el año 1936, pues tanto por Varela como por el mismo Mooser, supimos que la rata blanca inoculada con el material de estudio permitió en sus experiencias obtener un mayor número de resultados positivos. Tal fué por otra parte la técnica aplicada en los estudios iniciados hace ya varios años en la Sección de Peste del Instituto Bacteriológico para investigar el virus en ratas y en pulgas.

No podemos decir si la opinión de los diferentes autores a este respecto es coincidente y tampoco podemos aportar nosotros por el momento hechos que permitan juzgar el método. Al conocimiento de este asunto servirán de contribución las memorias próximas.

Un ensayo de esta naturaleza fué hecho solo por razones circunstanciales con la sangre del caso 12, comparativamente con cobayos inyectados al mismo tiempo. Ese único caso no permite extraer conclusiones, pero apoya la afirmación de los autores mencionados, pues la línea iniciada por rata ha dado reacción térmica más evidente en el cobayo en los primeros pasajes y ha permitido el reconocimiento de *Rickettsia* en la vaginal de la rata y del cobayo inoculados con sangre.

virus tífico de tres casos entre 9, en los que la enfermedad promediaba o estaba poco menos que a su término, y en los que la sangre contenía una cantidad elevada de anticuerpos. Así por ejemplo el caso N° 4 del 13° día de enfermedad tenía un título de 1/500 para Proteus, el caso N° 7 también de 13 días de evolución tenía un título de 1/1000 y en el caso N° 8 de 22 días de evolución tenía el título de 1/1000. Solamente hemos podido examinar cuatro casos en los cuales el suero no contenía anticuerpos. De tres de ellos se ha podido demostrar la presencia de virus y en uno no ha sido posible (caso N° 10). En este puede atribuírse el fracaso a la pequeña cantidad de sangre inyectada.

Influencia del suero sanguíneo sobre el hallazgo del virus. — En dos de los casos el 7 y el 8 de 13 y 22 días de evolución con un alto contenido de anticuerpos se aplica el procedimiento empleado por Giroud para demostrar la existencia del virus en la sangre después de transcurrido el período de la infección en los animales de laboratorio; en ambos se puede observar que la sangre citratada centrifugada y lavada tiene una mayor capacidad infecciosa que la sangre citratada tal cual, que contiene el suero sanguíneo, y por consiguiente los anticuerpos.

* * *

Como se comprende por lo que hemos relatado, nuestros estudios solo permiten la exposición de hechos y no interpretación alguna de interés biológico ni sanitario, y solo pueden extraerse conclusiones provisorias y de interés práctico para el laboratorio, las que deberán ser sometidas a la verificación por estudios sistemáticos.

CONCLUSIONES

1° De la sangre de 6 enfermos, entre 13, de tifus exantemático de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba se ha podido aislar en los animales de laboratorio (cobayo y rata) un virus constituido por *Rickettsia*.

2° En la mayor parte de los cobayos la infección ha sido inaparente. La manifestación más frecuente ha sido la reacción térmica. La elevación de temperatura ha sido pequeña y de corta duración.

3° El fenómeno de Neill Mooser sólo ha sido observado en un pequeño porcentaje de cobayos (6 entre 86 de las líneas positivas).

4° El virus ha sido encontrado en sangre de sujetos de hasta 22 días de evolución de la enfermedad con un título aglutinante de 1/1000 para Proteus X₁₉.

5º En dos de estos casos ha sido posible, o más fácil, la demostración del virus en los elementos celulares de la sangre privados del suero.

6º Por la inyección peritoneal de sangre en días sucesivos, según la técnica de Mooser, Varela y Pilz, ha sido fácil demostrar la presencia de *Rickettsia* en la túnica vaginal de las ratas.

7º A pesar de inocular este material con gran cantidad de *Rickettsias* a los cobayos, no ha sido posible establecer con seguridad una infección aparente por la reacción térmica ni por el fenómeno de Neill Mooser.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ZUCCARINI J. A.: *Estudios sobre tifus exantemático*. « El Día Médico », XIV, 446, 1942.
- (2) NEILL H. M.: *Experimental typhus fever in guinea pigs. A description of a scrotal lesion in guinea pigs infected with Mexican typhus*. « Publ. H. Rep. », 32, 1105, 1917.
- (3) MAXCY K. F.: *An epidemiological study of endemic typhus, Brill's disease, in the southern eastern United States with a special reference to its mode of transmission*. « Publ. H. Rep. », 41, 2967, 1926.
- (4) MOOSER H.: *Experiments relating to the pathology and etiology of Mexican typhus*. « J. of Infect. Dis. », 43, 241, 1928.
- (5) MOOSER H., VARELA G. y PILZ H.: *Experiments on the conversion of typhus strains*. « J. of Exp. Med. », 59, 137, 1934.
- (6) PINKERTON H. and BESSEY A.: *The loss of resistance to murine typhus infection, resulting from riboflavin deficiency in rats*. « Science », 89, 368, 1939.
- (7) GIROUD P.: *Mise en évidence dans le sang circulant, de virus typhique après la période d'évolution apparente de l'infection expérimentale*. « Ctes. Rend. Soc. de Biol. », 120, 1193, 1935.
- (8) VARELA G. y GAY P.: *Production d'orchite au moyen de la souche Tunisienne de typhus épidémique*. « Ctes. Rend. Hebdom. Soc. Biol. », 116, 731, 1934.
- (9) ZINSSER y RUIZ CASTAÑEDA: *A method of obtaining large amounts of Rickettsia prowazeki by X Ray radiation of rats*. « Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. », 29, 840, 1932.
- (10) MACCHIAVELLO A. y DRESSER R.: *A modified method of obtaining large amounts of Rickettsia prowazeki by Roentgen irradiation of rats*. « The J. of Exp. Med. », 62, 297, 1935.