

MÉTODOS USADOS EN COLOMBIA PARA EL ESTUDIO DEL VIRUS DE LA FIEBRE AMARILLA (1)

Por Manuel Roca García y Marston Bates.

Introducción.

Con el hallazgo hecho por Stokes, Bauer y Hudson (1928) acerca de la susceptibilidad del *Macacus rhesus* al virus de la fiebre amarilla, se inició la era de investigación epidemiológica de dicha enfermedad, facilitándose el estudio de este virus en el laboratorio, a saber: sus propiedades biofísicas y su comportamiento en el huésped y en el único vector conocido hasta entonces, el mosquito *Aedes aegypti*; pero los trabajos de laboratorio fueron en esa época muy limitados debido al alto costo del rhesus. El descubrimiento hecho por Theiler (1930) de la susceptibilidad del ratoncito blanco, mediante la inoculación intracerebral del virus, hizo posible, tanto en el laboratorio como en el campo, la investigación en grande escala, por decirlo así, de todas las incógnitas relacionadas con el virus mismo y con la epidemiología de la enfermedad.

El nuevo aspecto epidemiológico-selvático de la fiebre amarilla, ya sospechado aquí en Colombia por el Dr. Roberto Franco en los primeros años de este siglo y más tarde por Kerr y Patiño Camargo (1932) que culminó con los estudios hechos durante la epidemia del Valle de Chanaan, en el estado del Espíritu Santo, Brasil (Soper *et al* 1933), cambió totalmente el aspecto epidemiológico de la enfermedad, y nuevas incógnitas surgieron en cuanto a vector y reservorios. La confirmación hecha en 1934 y 1935 de un foco endémico de fiebre amarilla selvática en la Intendencia del Meta, en las zonas de Restrepo, Vi-

(1) Los estudios y observaciones en que se basa este trabajo se llevaron a cabo bajo los auspicios del Instituto de Estudios Especiales "Carlos Finlay" del Ministerio de Trabajo, Higiene y Previsión Social en cooperación con la División Sanitaria Internacional de la Fundación Rockefeller.

llavicencio y Acacias (Boshell, 1938) determinó el establecimiento de un laboratorio en Villavicencio en el año de 1938. Este laboratorio estaba equipado con los elementos y materiales necesarios para realizar estudios de virus, con el objeto de efectuar investigaciones sobre la epidemiología, o mejor dicho, sobre la "Historia Natural" de la fiebre amarilla selvática y, asimismo, confirmar y ampliar por medio de investigaciones de laboratorio los hallazgos hechos en el curso de trabajos realizados en la selva misma.

Las investigaciones preliminares realizadas tanto en Colombia como en el Brasil sobre la presencia de anticuerpos de fiebre amarilla en algunos mamíferos silvestres, procedentes de las zonas endémicas, señalaron que las especies de los grupos de primates y marsupiales eran probablemente los huéspedes más importantes. Asimismo, la confirmación en el laboratorio de la capacidad transmisora de algunos mosquitos selváticos hizo sospechar que el virus se mantenía mediante intercambio de infección de mamífero-mosquito-mamífero. Con el fin de evaluar más cuidadosamente la potencialidad de cada una de las especies de mamíferos en los supuestos ciclos naturales, se emprendieron estudios en el laboratorio sobre la susceptibilidad al virus amarillo de las especies más comunes.

La mayor parte de los estudios de susceptibilidad fueron hechos mediante la inoculación de dosis conocidas de virus, investigando la presencia de virus circulante y el desarrollo de anticuerpos. Los resultados concernientes a esta clase de trabajos en marsupiales fueron publicados por Bugher, Boshell, Roca y Gilmore (1941), y por Bates (1944b).

Más tarde por los estudios realizados en la selva y publicados por Bugher, Boshell, Roca y Osorno (1944) se comprobó que el virus de la fiebre amarilla se mantenía en la naturaleza mediante ciclos constantes entre mamíferos y zancudos, y que el vector principal era la especie de zancudo denominado *Haemagogus capricornii*, identificado más tarde como *Haemagogus spegazzinii falco* (Kumm, Osorno y Boshell, 1946); Bates y Roca (1945) confirmaron en el laboratorio los estudios anteriores mediante el establecimiento de ciclos de transmisión entre el mosquito *Haemagogus* y micos indígenas. Aprovechando el desarrollo de esta técnica, pudo evaluarse la susceptibilidad de algunas especies de marsupiales, (Bates y Roca, 1946).

El presente artículo tiene por objeto describir los métodos y técnicas usados en el curso de los estudios epidemiológicos realizados en el laboratorio de Villavicencio, puesto que lo concerniente a estas técnicas se halla muy disperso en la literatu-

ra, y no hay en la actualidad ninguna publicación que las presente en conjunto.

Virus amarílico.

Este es un virus filtrable, de molécula muy pequeña; su tamaño oscila entre 17 y 28 milésimas de micra (milímicras). Se multiplica fácilmente en los órganos de los animales susceptibles y se cultiva *in vitro* en medios especiales en presencia de células vivas, principalmente embrionarias. Es muy sensible a los agentes físicos y químicos: una temperatura de 55° C., por espacio de pocos minutos, es suficiente para destruirlo; asimismo el cloruro de sodio contenido en el suero fisiológico lo destruye en pocas horas, y aún el agua destilada produce el mismo efecto; pero esta acción se inhibe por algunas horas si se agrega un 10% de sustancia proteica. El vehículo que mejores resultados ha dado para la manipulación del virus en el laboratorio, que se conoce con el nombre común de "diluyente", es una solución compuesta de suero fisiológico más un 10% de suero normal humano o de mono (rhesus), es decir, sueros de personas o monos que no hayan sufrido la enfermedad ni hayan sido vacunados. Se conserva muy bien mediante la desecación al vacío y mantenido a una temperatura baja (no mayor de 4° C.).

El virus de fiebre amarilla aislado del hombre corresponde al llamado *virus pantrópico*, que posee propiedades *viscero* y *neurotrópicas*. La inoculación de este virus por vía extra-neural al rhesus generalmente ocasiona la muerte con destrucción del tejido hepático, mientras que inoculado intracerebralmente al ratón blanco produce una encefalitis después de un período de incubación bastante largo. El virus de fiebre amarilla es muy susceptible de modificarse o adaptarse; es así como el *virus pantrópico*, sometido a continuos pases de ratón a ratón mediante inoculación intracerebral, ha llegado a disminuir su viscerotropismo en tal forma que ha perdido la capacidad de producir infección visceral tanto en el hombre como en el rhesus; pero en cambio su patogenicidad para el ratón se ha aumentado, produciendo la muerte de este animal en 4-5 días. El virus "fijado" por tal procedimiento es conocido como "neurotrópico". La cepa "standard" de este tipo de virus es el *Neurotrópico Francés*, el cual fue aislado en Senegal (Africa) por los investigadores Mathis, Sellards y Laigret. Originalmente esta cepa fue aislada en rhesus, pero más tarde modificada por medio de pases en series en ratones blancos (Theiler, 1930). Una cepa de vi-

rus viscerotrópico muy empleado en estudios de laboratorio es el *Asibi*, especialmente virulento para el rhesus; este virus fue aislado por Bauer y Mahaffy de un caso benigno de fiebre amarilla (el negro *Asibi*), contraída en Costa de Oro (Africa). El llamado virus 17 D., corresponde al virus viscerotrópico *Asibi*, modificado por medio del cultivo *in vitro* en subcultivos sucesivos en medios que contenían alternadamente tejidos de embrión total de ratón, tejidos de embrión total de pollo y tejidos de embrión de pollo sin sistema nervioso central; después de 204 subcultivos el virus perdió completamente sus propiedades viscerotrópicas, conservando su poder antigénico específico y no siendo ya *patógeno* para el hombre ni para el rhesus en inoculación extra-neural. Este es el virus-vacuna que ha servido para inmunizar contra la fiebre amarilla a millones de personas.

Ratón blanco.

El hallazgo de la susceptibilidad del ratón blanco al virus de la fiebre amarilla hizo posible el establecimiento de técnicas de laboratorio por medio de las cuales se pudo controlar lo siguiente: vitalidad, dosificación, anticuerpos específicos e identidad del virus. Asimismo se pudo estimar la susceptibilidad de los animales experimentados, mediante la medida de la cantidad de virus presente en el torrente sanguíneo durante la infección, y el grado de inmunidad alcanzado después de ella. También se pudo seguir paso a paso el comportamiento del virus en el estudio de las varias especies de mosquitos sospechosas de ser posibles vectoras.

La raza de ratones blancos usada en los trabajos de fiebre amarilla realizados en Colombia corresponde a la albino-suiza, llevada y establecida en el Instituto Rockefeller en 1926 por la Doctora Clara Lynch. No todas las razas de ratones blancos son 100 por 100 susceptibles al virus amarílico como lo han demostrado estudios realizados por Sawyer y Lloyd (1931), y por Lynch y Hughes (1936).

La inoculación del virus amarílico al ratón blanco produce en éste una encefalitis mortal; sin embargo, la susceptibilidad de este animal presenta algunas modalidades en relación con la edad, la vía de inoculación y cepa de virus usada. De acuerdo con la índole de la investigación que se adelante, los ratones son usados desde la edad de 3 hasta 60-70 días, porque más tarde, aún a la inoculación intracerebral, presentan alguna resistencia y los resultados no son muy satisfactorios. De 3 a

6 días son susceptibles a todas las modalidades del virus amarrílico (*pantrópico*, *viscerotrópico*, *neurotrópico* y 17 D), ya mediante la inoculación subcutánea, intracerebral o por medio de las picaduras de mosquitos vectores infectados (Bugher, 1941). Posteriormente son susceptibles a todas las modalidades del virus, pero sólo usando la vía intracerebral y, principalmente, al virus neurotrópico. De los 9 a los 21 días son susceptibles por la vía intraperitoneal, inoculando grandes dosis de virus neurotrópico (Whitman, 1943); y después de esta edad también son susceptibles usando la misma técnica, pero produciendo antes de la inoculación una irritación cerebral mediante la inyección de 0.03 c.c. de una suspensión de almidón al 2% en suero fisiológico.

Todas las manipulaciones de rutina del virus se practican con ratones adultos y, por lo tanto, utilizando la vía intracerebral. Los ratones son anestesiados con éter sulfúrico (Fig. 2) y la inoculación (Fig. 3) se hace con jeringa de tuberculina de 1/4 o de 1/2 c.c., usándose una aguja hipodérmica de calibre 27 x 1/4 de pulgada de largo. El sitio de preferencia para la inyección corresponde al punto medio de una línea que va del ojo derecho a la oreja del mismo lado; pero la inyección puede ser practicada en el otro hemi-cráneo o en la parte media, y la cantidad inoculada es de 0.03 c.c.; una mayor cantidad produce la muerte por compresión cerebral. En investigaciones especiales del comportamiento del virus pantrópico en los experimentos de transmisión se usan frecuentemente ratones de 5 a 7 días de edad, inoculados intracerebralmente; éstos reciben la misma cantidad, es decir, 0.03 c.c. La tolerancia de la inoculación es satisfactoria, y la mortalidad por traumatismo es semejante a la encontrada en los ratones adultos inoculados por la misma vía. Cuando se inoculan ratones menores de 21 días son conservados con la madre (los ratones son desmamados a los 21 días de edad). Los ratones son inoculados en grupos de 6, los cuales son considerados como una unidad en la experimentación; cada grupo es mantenido en una caja de un tamaño de 16 x 25 x 12 ctms. (Fig. 4). Esta caja lleva el número de orden que corresponde a la tarjeta Record del grupo inoculado y en la cual van consignados los detalles de dicho experimento, y que permite, por tanto, la observación diaria del grupo correspondiente. Cuando se ha usado virus neurotrópico, los ratones principian a enfermar del 4º al 5º día de inoculación y a veces un poco más tarde, según la dosis de virus inoculada; la parálisis se presenta muy pronto (Fig. 1) y los ratones mueren entre el 5º y el 10º día. Cuando se trata de virus *pan-*

trópico o *viscerotrópico*, el período de incubación es mucho mayor, generalmente de 7 a 12 días, y en muchas ocasiones más; el período de la enfermedad es más largo y no siempre la encefalitis es fatal.

De acuerdo con el experimento que se adelante, los grupos de ratones inoculados son observados diariamente por un tiem-



Fig. 1. — Ratón que presenta parálisis de las extremidades posteriores, ocasionada por infección producida por el virus de la fiebre amarilla.

po mínimo de 10 días hasta un máximo de 30. Los ratones que mueren dentro de los cuatro primeros días después de la inoculación son descartados del experimento, pues seguramente la muerte es debida a traumatismo o a otra causa distinta del virus inoculado. La lectura u observación diaria de los ratones inoculados se indica con signos convencionales (véase

Fig. 13), expresándose al mismo tiempo la lectura por medio de un quebrado, cuyo numerador indica el número de ratones enfermos o moribundos y el denominador, el número de ejemplares que se encuentren vivos. El resultado final es expresado también en la forma de quebrado, cuyo numerador indica ei

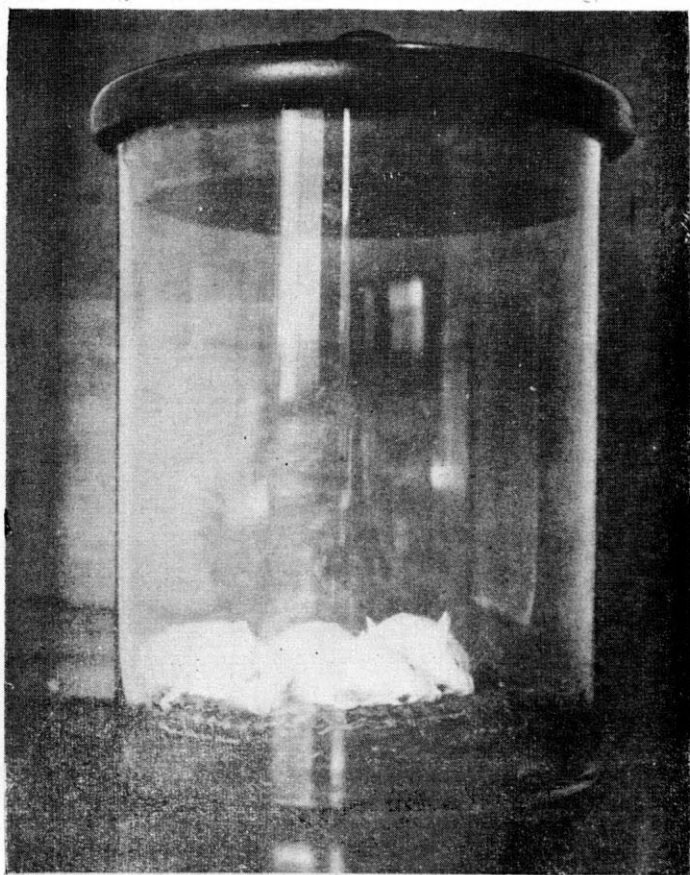


Fig. 2. — Bocal de vidrio donde aparecen tres ratones anestesiados con éter, listos para ser inoculados.

número de ratones que murieron a consecuencia de la infección y el denominador, el número de ratones inoculados.

Titulación del Virus.

Como ya dijimos, el hallazgo de la susceptibilidad del ratón blanco al virus de la fiebre amarilla, mediante la inocula-

ción intracerebral, permite medir o titular la potencialidad de dicho virus contenida en cualquier vehículo; así, por ejemplo, puede apreciarse la potencialidad del virus contenida en el suero sanguíneo del hombre enfermo o en el de uno de los animales susceptibles infectados, como también, el título o potencialidad del virus multiplicado en el cerebro de ratón que ha sido inoculado intracerebralmente, etc. La titulación se practica por medio de la inoculación intracerebral a ratones blancos adultos, de diluciones al décimo, en serie de la suspensión



Fig. 3. — Técnica de inoculación intracerebral con jeringa de tuberculina

madre del virus, usándose para cada dilución, por lo menos, un grupo de ratones. El "end-point" o punto final de una titulación corresponde a aquella dilución del virus que produce una mortalidad del 50% de los ratones inoculados.

Para mejor comprensión vamos a dar un ejemplo de una titulación: se trata de hacer la titulación del virus contenido en el suero sanguíneo de un rhesus inoculado. Se preparan extemporáneamente varios tubos que contengan 2.7 c.c. de diluyente (solución salina al 10% de suero normal de mono o humano) y se rotulan de 1/10 a 1/1.000.000. Sangrado el rhesus y

obtenido el suero, éste, para la finalidad de la titulación, corresponde a la dilución 0; tomando 0.3 c.c. del suero se pone en el tubo marcado 1/10 y se obtiene la dilución señalada; luego se toman 0.3 c.c. de esta dilución y se pasa al tubo siguiente marcado con 1/100, obteniéndose dicha dilución, y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 1/1.000.000; con cada una de estas diluciones se inocula un grupo de ratones adultos. Observados los ratones durante el tiempo requerido y tabulados los

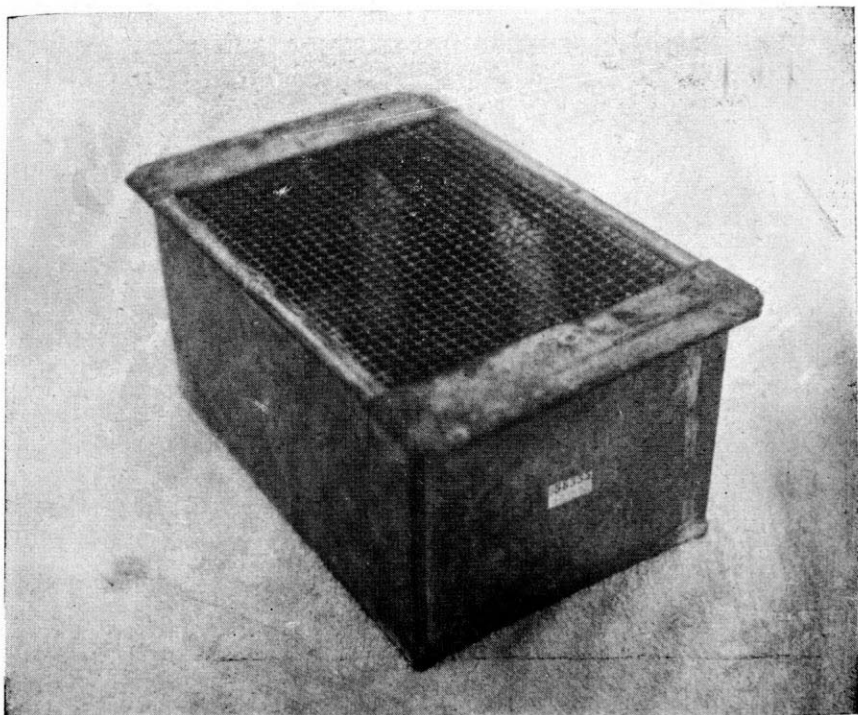


Fig. 4. — Caja metálica con tapa de malla donde se guardan los ratones infectados.

resultados podrá conocerse el título del virus en el suero del animal investigado; así por ejemplo, supongamos que se obtuvo el siguiente resultado:

Diluciones:	1/10	1/100	1/1000	1/10.000	1/100.000	1/1.000.000
Resultado:	6/6	6/6	6/6	6/6	3/6	0/6

es decir, que todos los ratones murieron de las diluciones 1/10 a 1/10.000; que en la dilución 1/100.000 sólo murieron 3 ratones

de los 6 inoculados, y que en la siguiente dilución no murió ningún ratón. Esto quiere decir que el título del virus es 1:100.000, dilución que mató el 50% de los ratones inoculados. lo cual se traduce diciendo que el virus contenido en el suero del rhesus investigado tiene una concentración tal, que diluido al 1 x 100.000 es capaz de matar la mitad de los ratones inoculados, lo que en otras palabras podrá decirse que 0.03 c.c. (cantidad inoculada intracerebralmente a cada ratón) del suero del rhesus tienen 100.000 dosis mínimas letales para el ra-

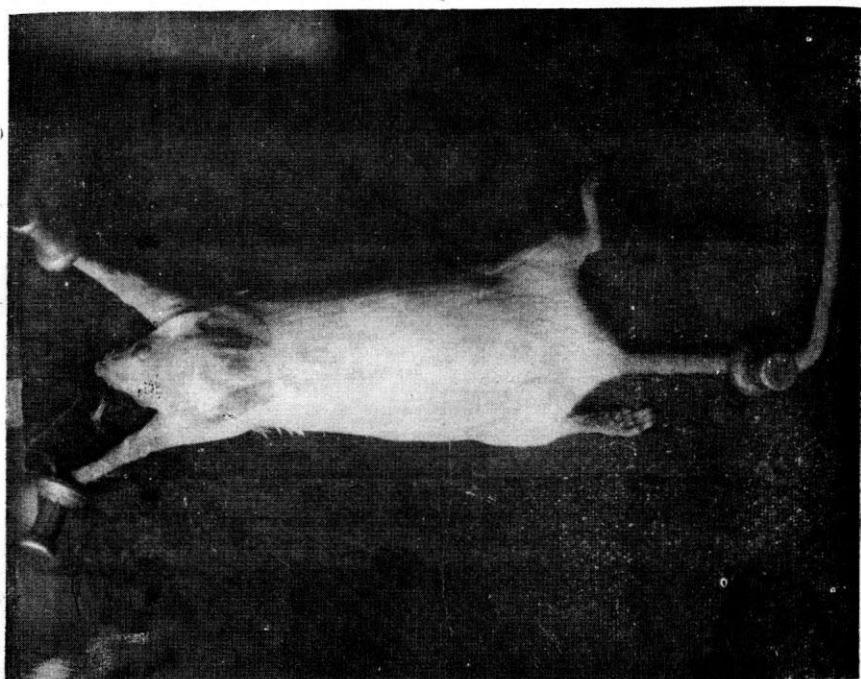


Fig. 5. — Ratón muerto por la acción del cloroformo, que muestra la colocación adecuada para extraerle el cerebro.

tón, lo que se expresa abreviadamente así: 100.000 D.M.L.R. En la práctica corriente, las diluciones siempre se expresan en forma logarítmica, como por ejemplo: las diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000, se expresan: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} ; para expresar el título anterior sería: $1:10^{-4}$. Mas son muy pocas las veces que en las titulaciones es posible obtener resultados como el expresado en el ejemplo anterior, es decir, que el *punto final* se encuentre precisamente en una de las diluciones, siendo necesario entonces aplicar el método de Reed y Muench (1932), que

comprende un cálculo logarítmico, el cual no es necesario resumirlo en el presente artículo.

Prueba de Especificidad.

Tiene por objeto esta prueba el confirmar si el virus aislado es o nó el de la fiebre amarilla. Esta confirmación puede hacerse indirecta o directamente. En el primer caso el virus es inoculado a algunos de los animales altamente susceptibles a la fiebre amarilla, tales como el rhesus o el Aotus (este último, mico americano conocido con el nombre común de "mico noc-

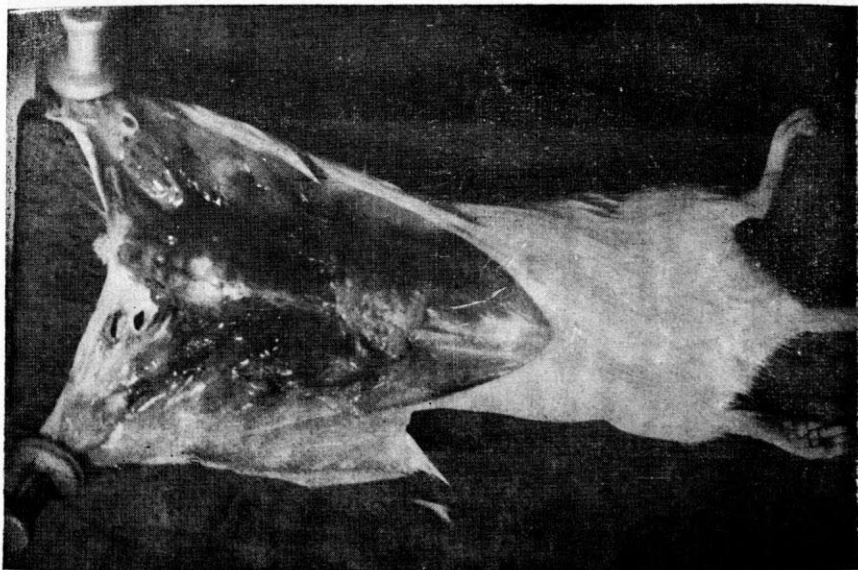


Fig. 6. — Ratón con la piel disectada y extendida debidamente para extracción del cerebro.

turno"); si el animal muere, se pueden comprobar las lesiones típicas de este virus en el hígado; si no muere, se puede, mediante la correspondiente prueba de protección, comprobar la formación de anticuerpos específicos en el animal inoculado. Cuando no se dispone de estos animales o se desee ser más económico, puede también usarse el curí; en este caso es necesario inocular varios ejemplares y usar dosis grandes de virus porque este animal no es tan susceptible como los primates, pero reacciona muy bien en la formación de anticuerpos.

La forma directa corresponde a la prueba propiamente dicha de especificidad. Esta prueba consiste en la neutralización del virus aislado por un suero ya conocido que neutraliza el virus legítimo de la fiebre amarilla. Esta es la forma generalmente usada cuando el virus ha sido aislado en ratones. Es conveniente hacer unos cuantos pases en series, pues es necesaria una ligera adaptación neurotrópica del virus para el éxito de esta prueba. La técnica consiste en la inoculación intracerebral a ratones blancos adultos, de mezclas de suero inmune de fiebre

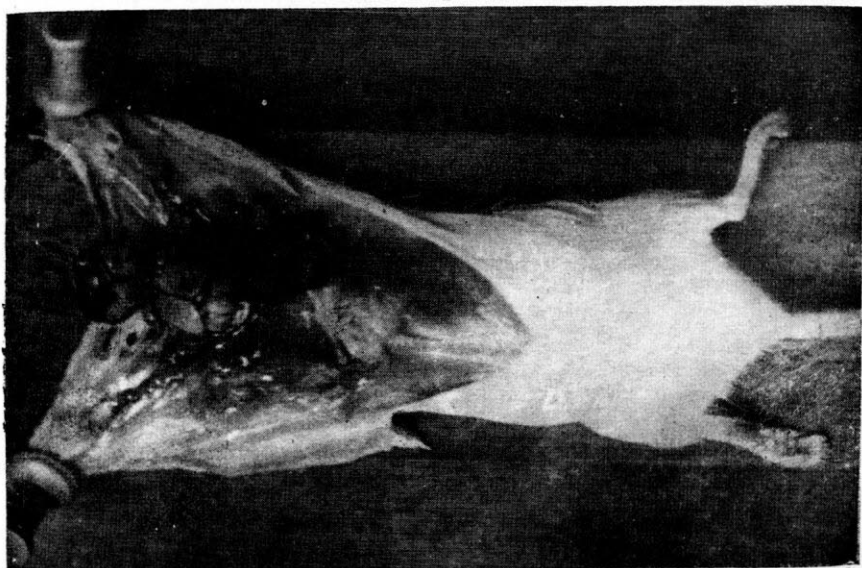


Fig. 7. — Cráneo cortado con tijeras, que muestra el cerebro listo para ser extraído.

amarilla, en partes iguales con diluciones al décimo en serie del virus aislado, después de haber sido incubadas dos horas a la temperatura de 27° C. Como control se inoculan mezclas exactamente iguales a las anteriores, en las cuales se usa suero normal. Los ratones son observados durante 14 días, y tabulados los resultados puede apreciarse si el virus en mención es o no el de la fiebre amarilla. Para mejor comprensión ponemos un ejemplo positivo:

Suero inmune de mono mezclado

en partes iguales con virus de

la correspondiente dilución - Resultado:

10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5}

1/6 0/6 0/6 0/6

Suero normal de mono mezclado				
en partes iguales con virus de	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
la correspondiente dilución - Resultado:	6/6	4/6	3/6	0/6

Como puede apreciarse en el resultado de la inoculación de las mezclas de suero inmune y virus, en las diluciones 10^{-2} a 10^{-4} solamente murió un ratón en la primera dilución, mientras que en los controles normales, en la primera dilución 10^{-2} murieron todos los ratones, 4 de 6 en la siguiente y en la 10^{-4} , 3 de 6; se ha puesto así de manifiesto, el poder neutralizante del suero inmune en presencia de su antígeno específico. Cuan-

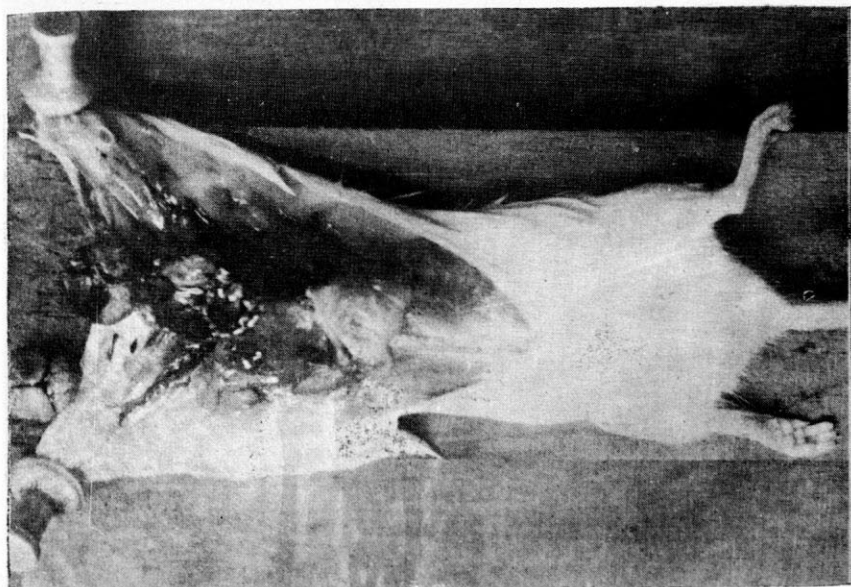


Fig. 8. — Cerebro extraído intacto; en los experimentos, siempre se coloca el cerebro directamente en una caja de petri esterilizada.

do se encuentra muy poca diferencia debido al bajo título de virus, la prueba es declarada no satisfactoria y se hace necesario una repetición. Cuando los resultados de ambas mezclas son casi parecidos, demostrándose que el suero inmune no ha obrado como suero neutralizante, la prueba es negativa, y quiere decir que se está en presencia de un virus que no es el de la fiebre amarilla; pero siempre es prudente repetir la prueba para descartar cualquier error.

Prueba de Protección.

Stokes, Bauer y Hudson, en 1928, demostraron que el *Macacus rhesus* puede ser protegido de la infección amarílica experimental cuando recibe al mismo tiempo una dosis conveniente de suero de convaleciente de dicha enfermedad. Este fenómeno dió origen al nombre dado a la prueba que investiga la presencia de anticuerpos específicos para el virus de la fiebre amarilla. Fue en esta forma como se practicaron las primeras pruebas de protección que permitieron demostrar la infección amarílica.

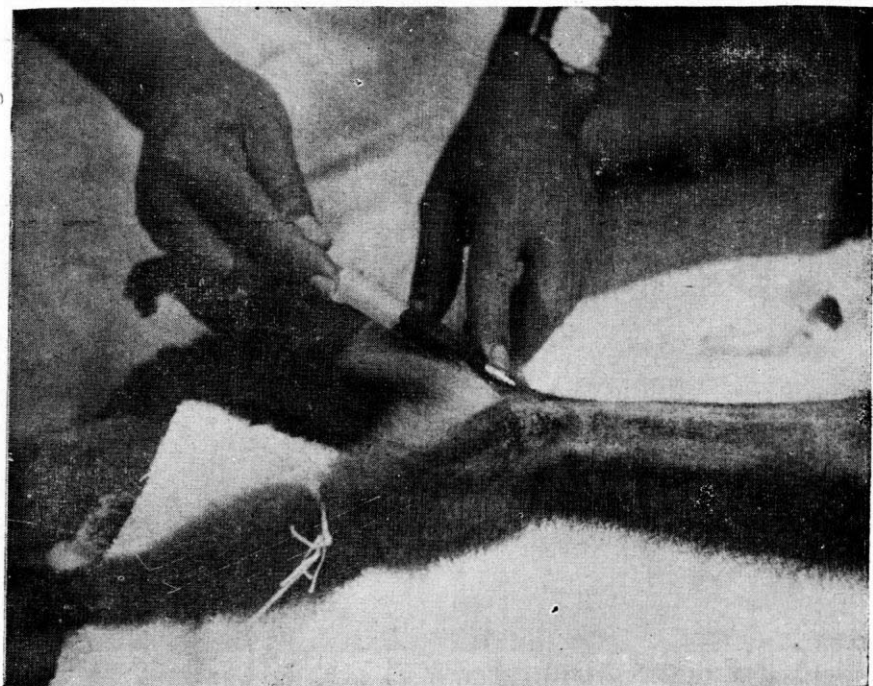


Fig. 9. — Técnica de sangría, usando los vasos femorales, en el Mico *Aotus*.

ca sufrida en México, Brasil y Perú, de 1919 a 1927, y comprobar la identidad inmunológica del virus presente en este Hemisferio con la del Africa Occidental.

Después del hallazgo de la susceptibilidad del ratón blanco al virus de la fiebre amarilla, Theiler demostró, en 1931, el poder protector del suero de convaleciente de esta enfermedad para el ratón blanco, cuando una mezcla en partes iguales de suero inmune y virus neurotrópico era inoculada intrecerebralmente a dicho animal. Esta prueba, que permitía distinguir

un suero inmune de otro no inmune, presentaba resultados un tanto irregulares debido a la dificultad de calcular anticipadamente una dosis conveniente de virus, y hacía necesario el uso de muchos ratones para obtener un resultado válido al probar un gran número de sueros.

Sawyer y Lloyd, en 1931, obviando los inconvenientes de la técnica anterior, idearon la prueba conocida con el nombre de "Prueba de Protección Intraperitoneal en el ratón blanco". Esta prueba se basa en el hecho de que cuando el ratón blanco es

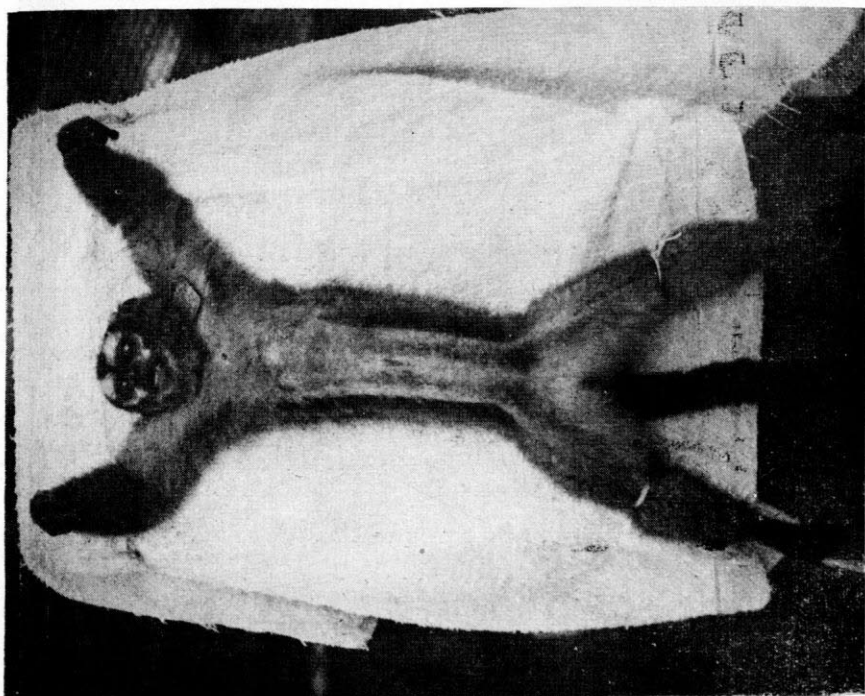


Fig. 10. — Mico Aotus con el pelo del abdomen rasurado, amarrado en posición especial para facilitar la picadura de los mosquitos.

inoculado intraperitonealmente con grandes dosis de virus neurotrópico, éste entra al torrente sanguíneo y si al mismo tiempo el animal ha sido irritado intracerebralmente por medio de una inyección inocuándose el virus es así fijado en el cerebro desarrollándose una encefalitis mortal. En la práctica, esta prueba consiste en la inoculación intra-peritoneal a ratones blancos adultos de 0.6 c.c. de una mezcla de dos partes de suero por probar (3.0c.c.) y una parte de virus fresco neurotrópico Francés (1.5 c.c. de una suspensión cerebral al 10% en suero fi-

siológico). Los ratones inoculados deben haber recibido momentos antes una inyección intracerebral de 0.03 c.c. de una suspensión de almidón al 2% en suero fisiológico. Los controles de sueros normales e inmunes, ya conocidos, como también el correspondiente control del virus usado, hacen parte integrante de la prueba.

En 1933 Theiler modificó la técnica original de su prueba de protección y obtuvo mejores resultados, aunque siempre era



Fig. 11. — Estantería de metal donde se guardan las cajas con los ratones infectados.

necesario el uso de un gran número de ratones. Bugher, 1940, hizo una revisión de la prueba de Theiler, introduciendo una técnica especial en la desecación del virus neurotrópico que da mayor estabilidad al virus, es decir, menos fluctuaciones en su título. La técnica así mejorada por Bugher, es menos complicada y permite resultados satisfactorios utilizando sólo un grupo de ratones para cada suero por probar. Es esta prueba, así modificada por Bugher, la que se ha generalizado para la investigación de anticuerpos de fiebre amarilla. En la práctica la

prueba consiste en la inoculación intracerebral al ratón blanco adulto de 0.03 c.c. de una mezcla, en partes iguales, de suero por probar y virus neurotrópico (0.3 c.c. de suero y 0.3 c.c. de dilución de virus), en una dilución conveniente de acuerdo con el título pre-establecido del lote del virus en uso, calculando dar a los ratones inoculados alrededor de 100 D.M.L.R. La mezcla suero-virus es incubada durante 2 horas a la temperatura de 27° C. antes de ser inoculada. Lo mismo que en la prueba intraperitoneal, la intracerebral exige los correspondien-

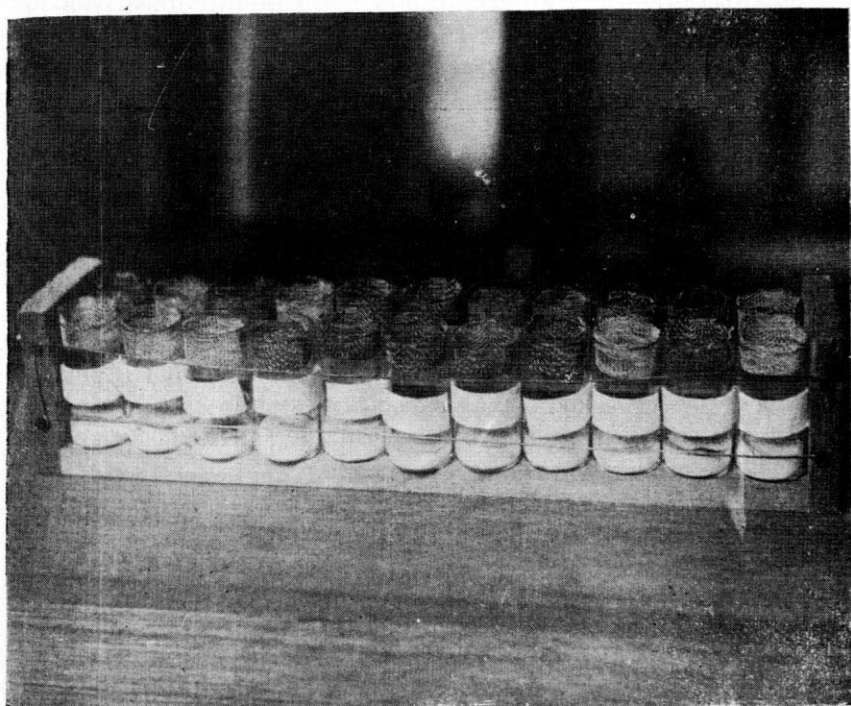


Fig. 12. — Dedales de vidrio donde se colocan individualmente los mosquitos infectados.

tes controles de sueros normales e inmunes, así como los del virus usado.

En ambas pruebas los ratones son observados durante 10 días; los resultados son expresados en "*protección*", lo que quiere decir que en el quebrado que indica el resultado de cada grupo de ratones, el numerador representa el número de ratones que *sobrevivieron*. Es de gran importancia en las pruebas de protección el investigar en cada grupo de ratones el llamado

"A. S. T.", de la expresión en inglés "average survival time", o sea, el promedio de supervivencia de los ratones en cada grupo.

Declarada "satisfactoria" la prueba, es decir, que tanto los resultados de los sueros-contrroles como el del virus usado están en regla, se hace la interpretación de los sueros incluidos en ella. Cuando en un grupo de ratones, por cualquier causa accidental, sea necesario descartar más de dos animales, el suero correspondiente a dicho grupo es declarado "no satisfactorio" y debe ser repetido.

Rutinariamente son declarados francamente positivos los sueros con un resultado de: 4/4, 5/5, 6/6, 4/5 y 5/6 con un "AST" que oscile entre 8.8 a 10.0; sueros con un resultado de 0/4, 0/5, 0/6, 1/5 y 1/6 con un "AST" que oscile entre 5.0 a 6.3, son considerados como verdaderos negativos. Para la interpretación de los resultados intermedios es necesario un análisis especial de la prueba, así como también el estudio de muchos otros factores que, por no creerlos necesario en el presente artículo, no entramos a considerarlos y dejamos que el lector consulte para mayores detalles las referencias citadas.

La prueba de protección intracerebral tiene la ventaja, sobre la intraperitoneal de ser mucho más sensible y poder ser practicada con cantidades muy pequeñas de suero, pero la intraperitoneal es mucho más específica, siendo ésta la que casi siempre se usa en la investigación de anticuerpos en el hombre.

Uso de monos y micos.

Después del hallazgo hecho por Bauer y Hudson (1928) de la susceptibilidad del *Macacus rhesus* al virus amarílico, se iniciaron los estudios de susceptibilidad de las diferentes especies de primates, tanto del Africa como de la América del Sur, confirmandose que todas ellas presentan cierto grado de susceptibilidad al virus. Davis (1930a, 1930b, 1930c, 1931), y Davis y Shannon (1929) estudiaron una gran serie de micos brasileños y encontraron las especies de *Saimiri*, *Callithrix* y *Leontocebus* especialmente susceptibles. Laemert (1944) hizo un estudio detenido del comportamiento del virus en *Callithrix* y *Leontocebus*, y Waddell y Taylor (1945) mantuvieron ciclos de virus en micos *Callithrix* empleando como vectores *Aedes aegypti* y *Haemagogus equinus*. En el laboratorio de Villavicencio se comprobó la susceptibilidad de varios micos colombianos de los cuales *Saimiri* (Bates, 1944a), *Aotus* (Bates y Roca, 1945b) y *Oedipomidas* (Bates y Roca, 1946) eran especialmente susceptibles. Con estas tres especies y como vector el *Haemagogus spe-*

gazzinii, fue posible mantener el virus amarílico en ciclos constantes de primates-mosquitos-primates durante todo un año hasta completar 14 ciclos (Bates y Roca, 1946).

Es el *Aotus* tal vez el primate más susceptible de Colombia al virus de la fiebre amarilla, pues este animal reacciona en una forma semejante al *Macacus rhesus*. En nuestros estudios sobre esta especie se ha confirmado que animales infectados por medio de picaduras de mosquitos, han muerto, después de presentar en su torrente sanguíneo virus circulante con título semejante al presentado por los rhesus inoculados con virus Asi-bi y mostrando el 90% de ellos lesiones de fiebre amarilla en el hígado, tan típicas como las mostradas por el hombre que ha sucumbido a esta enfermedad.

El *Saimiri* presenta, tal vez en un 5%, lesiones de fiebre amarilla, pero no tan típicas como las mostradas por el *Aotus*. Además de la susceptibilidad especial demostrada por estas dos especies para el virus amarílico, tienen ellas la ventaja de ser de fácil manejo en las rutinas de laboratorio y de adaptarse fácilmente a las condiciones de cautividad.

Los *Saimiris* y *Aotus* usados en este laboratorio fueron comprados a personas distintas que los capturaron en las regiones vecinas a Villavicencio, Restrepo y Acacías. A cada ejemplar adquirido por el laboratorio se le asignó el correspondiente número de orden, el cual fué tatuado en ambas orejas, y para mayor comodidad se le fijó al cuello una pequeña placa de aluminio o de bronce con el mismo número. Una ficha para cada animal es llevada cuidadosamente, con entradas de todos los detalles concernientes tanto al espécimen como a toda la experimentación (véase Fig. 14). Anotaciones a mañana y tarde de la temperatura rectal son hechas durante los primeros 10 días de la experimentación.

La mayor parte de los *Saimiris* fueron infectados por medio de inyección subcutánea, intramuscular o intra-peritoneal de virus. Un gran número de estos mismos animales fue infectado también por medio de picadura de *Haemagogus spegazzinii*, infectados con virus amarílico en el curso de los estudios de la confirmación de este mosquito como verdadero vector selvático (Bates y Roca, 1945a). Todos los *Aotus* experimentados fueron infectados mediante picadura de *Haemagogus spegazzinii* (Bates y Roca, 1945b y 1946).

Al iniciarse cualquier experimento el animal es sangrado de los vasos femorales (Fig. 9) y su suero guardado como control pre-experimental. La determinación de la presencia de virus en el torrente sanguíneo, es practicada desde el tercero hasta el séptimo día de haber sido inoculado o expuesto a las

picaduras de los mosquitos infectados. Sangrado el animal de los vasos femorales, obtenidos 2.0 cc. de sangre y una vez formado el coágulo sanguíneo, por medio de la centrifugación, se separa el suero con el cual se practican las correspondientes diluciones, desde 10^{-1} a 10^{-6} para la titulación del contenido del virus.

La investigación de inmunidad para la fiebre amarilla se practica en todos los ejemplares pocos días después de haber llegado al laboratorio; solamente animales con resultados negativos son usados en los experimentos de transmisión o de susceptibilidad para el virus. Todos los animales sobrevivientes en la experimentación son sangrados de 21 a 30 días después de haber sido expuestos a la infección. Los sueros pre y post-experimentación son luego sometidos a la prueba de protección intracerebral en el mismo "run", siguiendo la técnica de Bugher.

Los animales que mueren en el curso de la experimentación son autopsiados y una muestra de hígado, conservada en formol al 10% en solución salina al 0.9%, es remitida a Bogotá para el correspondiente estudio histopatológico.

Aislamiento de Virus.

En el hombre enfermo de fiebre amarilla es posible demostrar la presencia del virus en el torrente sanguíneo, desde un poco antes de presentarse los primeros síntomas de la enfermedad, hasta el 5º día de ella; el virus circula en mayor concentración durante los 3 primeros días. Casi siempre el aislamiento se hace por medio de la inoculación intracerebral del suero del enfermo a ratones adultos, por la gran facilidad de poder llevar estos animales hasta el lugar donde se encuentra el paciente; también puede hacerse en el rhesus o en micos Sudamericanos (Saimiri, Aotus). Estos animales pueden ser inoculados subcutánea o intra-peritonealmente con el suero o la sangre total. Una vez inoculados los ratones o los micos, éstos deben ser enviados al laboratorio para su observación; cuando se trate de micos, la jaula de éstos debe ser protegida con anejo a fin de evitar la posible infección de mosquitos. Cuando el enfermo no se encuentra muy lejos del laboratorio, es posible tomar sangre en vénulas que deben ser transportadas en termos con hielo para asegurar la vitalidad del virus.

Los ratones así inoculados, de acuerdo con la concentración del virus en el momento de la sangría del enfermo, pueden mostrar los primeros síntomas desde el 7º día de inoculación: erizamiento, excitabilidad, presentándose la parálisis uno

o dos días después. El número de ratones que enferma está en relación con el título del virus inoculado; cuando éste es bajo, el período de incubación puede prolongarse hasta 21 días o más; y en algunas ocasiones los síntomas son tan ligeros, que pueden escapar a la observación de una persona de poca práctica en trabajos de virus; así, pues, ante síntomas sospechosos de cualquiera de los ratones inoculados, se practica el correspondiente pase de confirmación del agente infeccioso aislado, a nuevos grupos de ratones. El ratón sospechoso se mata con cloroformo y extraído el cerebro asépticamente (Figs. 5, 6, 7, 8) es triturado en un mortero con suero fisiológico en cantidad suficiente para obtener una suspensión cerebral al 10% (un cerebro de ratón tiene un promedio de peso de 0.30 grs); centrifugada esta suspensión por 15 minutos a 1.500 r.p.m., el sobrenadante es usado para la inoculación. El virus puede ser conservado así indefinidamente mediante pases sucesivos a nuevos grupos de ratones pero generalmente se preserva mediante la desecación, o en glicerina al 50% en solución salina. Más adelante hablaremos sobre estas técnicas.

El desarrollo de una encefalitis en los ratones inoculados con el suero proveniente de un enfermo sospechoso de sufrir la fiebre amarilla, no es suficiente para afirmar con certeza que se ha aislado el virus amarílico pues son muchos los virus con propiedades neurotrópicas que, inoculados intracerebralmente en ratones blancos, pueden desarrollar una encefalitis. Así, pues, una vez confirmado que en los ratones inoculados se ha fijado un agente infeccioso, es necesario comprobar que es un virus y que éste es en verdad *virus de fiebre amarilla*. Cuando la manipulación de la sangría del enfermo e inoculación de los ratones han sido practicadas con la asepsia requerida, en muy pocas ocasiones se presenta una infección bacteriana, pero cuando ésta se presenta, puede ser fácilmente descartada debido a los síntomas presentados por los ratones; asimismo, al practicar el pase de confirmación del agente aislado, los resultados de la siembra de la suspensión cerebral pueden indicar la infección bacteriana, lo mismo que la presencia de bacterias en las preparaciones de impresiones cerebrales procedentes de los ratones enfermos; como rutina, casi siempre al practicarse el pase de confirmación, se inoculan, cuando menos, dos grupos de ratones: uno, con el material centrifugado y otro, con material filtrado por Seitz E. K. Cuando las investigaciones bacteriológicas han sido negativas y el agente infeccioso ha pasado por el filtro, ello indica que se está en presencia de un agente filtrable, pero queda por confirmar que el virus es

el de la fiebre amarilla; esta confirmación se practica por medio de la llamada "Prueba de Especificidad".

Cuando la tentativa de aislamiento de virus ha sido hecha en el rhesus o en uno de los micos *Aotus* o *Saimiris* el virus puede aislarse de su sangre. De acuerdo con la dosis inoculada, el período de incubación oscilará entre dos y seis días; en el *Saimiri*, que no es tan susceptible, el período de incubación será un poco más demorado. El principal síntoma es la fiebre que se presenta generalmente desde el tercer día, llegando hasta 40.5° C., en el rhesus y el *Aotus*. Esta temperatura permanece alta por unos tres o cuatro días, con oscilaciones de uno a medio grado de la mañana a la tarde; cuando la temperatura de la mañana es de 40.0° C., es éste un buen síntoma de infección. Otro de los síntomas que puede presentarse en estos animales es la ictericia, la cual puede ser apreciada muy bien en el suero sanguíneo, conjuntivas oculares y en las orejas de los rhesus y *Saimiris*, síntoma que se presenta generalmente del 4º día en adelante.

La presencia del virus circulante es positiva desde el 3º o 4º día de la inoculación hasta el 7º; pero en algunas ocasiones puede prolongarse hasta el 9º o 10º día. La concentración o título más alto del virus se presenta en la mayoría de las veces entre el 4º y el 6º día.

En las infecciones fatales la muerte se presenta generalmente del 4º al 7º día de la inoculación, con algunas excepciones después de este último. Los hallazgos de autopsia son completamente típicos en la mayoría de los rhesus: tinte icterico de las serosas, hígado grande y de color de tabaco o gamuza, estómago con abundantes residuos hemorrágicos y equimosis del tejido submucoso, bazo y riñones congestionados. Los *Aotus* y *Saimiris* presentan algunas veces un hígado del mismo aspecto que el presentado por el del rhesus, y escasos residuos hemorrágicos en el estómago. En cuanto a las lesiones histopatológicas del hígado, son típicas tanto en el rhesus como en el *Aotus*; en el *Saimiri* se encuentran en un porcentaje muy bajo (tal vez un 5%).

Inoculado uno de estos animales con la sangre de un enfermo sospechoso de fiebre amarilla, se inicia la investigación de virus circulante por medio de la inoculación de su suero sanguíneo al ratón blanco a partir del 3er. día. Si en el 4º y 5º días los síntomas presentados por el animal inoculado son sospechosos, el virus puede ser conservado mediante la desecación del suero sanguíneo en uno de esos días. Con los ratones ya inoculados pueden seguirse las manipulaciones anotadas cuan-

do se habló del aislamiento del virus en dichos animales. Para la confirmación del virus aislado como virus de fiebre amarilla hay que practicar la correspondiente prueba de especificidad. También se puede confirmar, con la autopsia y el estudio histo-patológico del hígado en las infecciones fatales de los *Aotus* y rhesus; y en las no mortales, por medio de la prueba de protección en el suero sanguíneo de una muestra de sangre tomada antes de la inoculación y otra 30 días después de ella; si se trata de una infección por fiebre amarilla, la primera muestra debe ser negativa y la segunda, positiva; cuando ambas son negativas, seguramente el virus aislado corresponde a otro agente infeccioso, lo cual será también confirmado por la prueba de especificidad.

Preservación del Virus.

El virus de la fiebre amarilla pierde su actividad muy fácilmente y, por tanto, es difícil poderlo conservar en estado activo sin ser sometido a una técnica especial. Rápidamente pierde su virulencia cuando se conserva en una suspensión pobre en contenido proteínico, y aún en un medio de alta concentración proteínica, tal como el suero sanguíneo puro, el virus pierde gradualmente su actividad. El grado de dicha pérdida depende de la temperatura a que sea conservado: cuanto más alta sea ésta, mucho más pronto el virus es destruido. La oxidación tiene una influencia muy marcada: así, el virus contenido en el suero sanguíneo proveniente de un enfermo de fiebre amarilla, conservado a la temperatura ambiente y expuesto al aire, es inactivo a las 48 horas; mientras que en el mismo suero conservado en iguales condiciones pero cubierto con una capa de vaselina, el virus conserva su actividad por 6 días.

Después del hallazgo de la susceptibilidad del *Macacus rhesus* al virus de fiebre amarilla, se iniciaron las investigaciones con el fin de poder conservar este virus *in vitro* (Sawyer, Lloyd y Kitchen, 1928). Las primeras tentativas se hicieron con sangre e hígado provenientes de rhesus infectados: sangre citratada al 2%, sangre coagulada, sangre-glicerina al 50%, hígado en pedazos pequeños o triturado, conservado en solución de Locke y glicerina al 50%; siendo conservadas todas las preparaciones en nevera (4° C.). El más satisfactorio de estos métodos fue el de la glicerina, en el cual el virus sobrevivió por 60 días. También se ensayó el hígado congelado; en esta forma el virus sólo se conservó activo por espacio de 30 días.

Después de los resultados anteriores, Sawyer, Lloyd y Kitchen ensayaron el método de la desecación al vacío, congelándose previamente el material por desecar.

En la técnica usada por Sawyer, Lloyd y Kitchen se requieren los aparatos siguientes: desecador del tipo "Hempel", de 15 a 20 cms. de diámetro interior, provisto de una rejilla circular para tubos de 10 a 12 mm. de diámetro, una bomba eléctrica para el vacío (Cenco Hyvac) y tambor de gas carbónico con el correspondiente aditamento para la confección de panes de nieve carbónica. El desecador es preparado 24 a 48 horas antes de iniciar la desecación: en la tapa se ponen 150 a 200 c.c. de ácido sulfúrico concentrado, de acuerdo con la capacidad del aparato; después de taparlo convenientemente, aplicando grasa suficiente para asegurar un cierre perfecto, se practica un poco de vacío y luego se coloca en un recipiente que contiene una mezcla de hielo machacado y sal común, mezcla que debe cubrir el desecador hasta el nivel de la tapa. Preparado en esta forma se coloca dentro de una refrigeradora y así se consigue un enfriamiento a una temperatura de 5 a 10 grados bajo cero. Para mejor control, con anticipación, se coloca un termómetro dentro del desecador.

Supongamos que se trata ahora de preservar el virus proveniente de un mono que ha sido infectado. Juzgando por el aspecto del animal en cuanto al grado de infección, el mono es sangrado del 3º al 5º día, y una vez obtenido el suero sanguíneo, éste se pone en cantidad de 0.5 c.c. en tubos de 100 x 10 mm.; mientras se hace lo anterior, en un recipiente pequeño se prepara una mezcla de alcohol absoluto y nieve carbónica; cuando esta mezcla ha tomado un aspecto de jarabe se van introduciendo en ella, hasta la mitad y en grupos de a tres, los tubos ya preparados con el suero por desecar, imprimiéndoles un movimiento rápido de rotación. De uno a dos minutos son suficientes para congelar los tres tubos y, secados del exceso de alcohol-nieve carbónica, van colocándose en el desecador que se tiene destapado y se ha reaprovisionado de hielo para mantenerlo frío. Terminada la congelación de los tubos, el desecador se tapa con los mismos cuidados indicados anteriormente, y se conecta a la bomba de vacío, la cual se pone en funcionamiento por espacio de dos o tres horas, de acuerdo con el número de tubos por desecar. Durante todo este tiempo el recipiente enfriante se mantiene bien provisto de hielo. Terminado el vacío se coloca nuevamente el desecador en la nevera, y al cabo de 24 horas o más, los tubos son sacados y sellados al soplete. Para mejor preservación del virus se puede colocar una

sustancia hidrófila dentro del tubo que lo contiene. Con tal fin se hunde el tapón de algodón hasta la mitad del tubo y se agregan pedacitos de calcio anhidro o "silica gel", y se sella el tubo al soplete. Cuando se trata de preservar virus provenientes de ratones, se prepara una suspensión cerebral (ratones moribundos), del 5 al 10% en suero normal humano o de mono y después de centrifugado por espacio de media hora a 2.000 r.p.m., el sobre-nadante es sometido a la técnica ya mencionada. Virus preservados en esta forma han permanecido activos hasta por un término de 10 años en los laboratorios de la Fundación Rockefeller en New York.

Más tarde, con el hallazgo de la vacuna contra la fiebre amarilla, el método anterior fue perfeccionado al emplearse la técnica ideada por Bauer y Pickels (1940), técnica ésta muy superior, ya que permite una desecación mucho mejor pues con ella se obtiene un material con un grado de humedad menor al 4% y, al mismo tiempo, se sellan las ampollitas o tubos después de haber recibido gas nitrógeno seco sin que el material entre en contacto con el aire exterior. Tanto el porcentaje de humedad del material desecado como la presencia de nitrógeno son factores de capital importancia para la preservación del virus porque se ha demostrado (Fox y Gard, 1940) que la duración de la actividad del mismo está en razón inversa del grado de humedad del producto desecado y que, asimismo, la actividad decrece más rápidamente cuando el material desecado ha sido sellado en presencia de aire que cuando lo ha sido en presencia de nitrógeno. No describimos esta técnica por no considerarla de importancia para el presente artículo.

Manipulación de mosquitos en el Laboratorio.

Para los experimentos de transmisión, en el laboratorio de Villavicencio se usaron generalmente especímenes de *Haemagogus spegazzinii* capturados con 12 a 24 horas de anticipación en bosques vecinos a la población. Los mosquitos fueron transportados al laboratorio individualmente en tubos de ensayo (para tal fin se encontraron apropiados tubos de 100 mm. x 10 mm.), y conservados luego en un lugar fresco hasta el momento de ser infectados. Se encontró conveniente el ingurgitar los mosquitos uno a uno en los animales fuentes de virus, manteniendo tales animales atados a una tabla especial. Los mosquitos parecen ingurgitarse mejor en las palmas de las manos o en las plantas de los pies de los animales, posiblemente debido a la mayor irrigación sanguínea en estas regiones; cuando se trata de ingurgitar un gran número de ejemplares,

es mucho mejor usar el abdomen del animal, región que debe haber sido previamente afeitada en seco (véase Fig. 10). El tapón de algodón es quitado y el tubo es invertido hacia la piel del animal; tan pronto como el mosquito ha principiado a picar, el tubo es retirado, dejando el mosquito libre, lo que facilita el tomar otro mosquito. La manipulación se lleva a cabo en un cuarto aislado del laboratorio, en donde se ha armado una jaula de anejo, evitándose en esta forma toda posibilidad de fuga de los mosquitos. A medida que los mosquitos se van ingurgitando, éstos vuelan hacia el anejo donde pueden capturarse nuevamente. En esta forma los mosquitos son manipulados individualmente y hay la certeza de que cada ejemplar realmente se ha ingurgitado.

Para la ingurgitación de mosquitos ha sido costumbre usar jaulitas especiales de madera y anejo en un diseño adecuado, que permite el ser colocadas directamente sobre el abdomen del animal que sirve como fuente de virus o simplemente como fuente de sangre normal; también en otras ocasiones se han usado aparatos muy sencillos, tales como tubos de lámparas, a los cuales se les cierran sus extremidades con gasa; en esta forma, gran número de mosquitos pueden ser manipulados a un mismo tiempo. Sin embargo, nosotros hemos encontrado mucha dificultad al tratar de hacer picar *Haemagogus spegazzinii* usando esta última técnica, y por tanto hubo que recurrir al método del tubo individual. Cuando se trata de especies de mosquitos que son de fácil manejo en el laboratorio, tales como el *Aedes aegypti*, el método de jaulitas sería probablemente mucho más eficiente.

Después de que todos los mosquitos de un lote dado han sido ingurgitados, un número pequeño de ellos (generalmente 5) es tomado al azar para su inmediata inoculación en ratones como "controles" del experimento. Estos mosquitos son triturados separadamente en 0.5 c.c. de agua destilada al 10% de suero normal humano o de mono, e inoculados intracerebralmente en paralelo, en grupos de ratones de 7 días de edad y en adultos. El resultado obtenido de los mosquitos "controles" es tomado como índice de la cantidad de virus recibida por el lote ingurgitado. El resto de los mosquitos es colocado en condiciones de temperatura y humedad especiales, en las cuales serán mantenidos para los experimentos de transmisión.

Para el *Haemagogus spegazzinii* hemos encontrado muy satisfactorio mantener estos mosquitos individualmente en dedales de vidrio con dimensiones de 25 x 50 mm., con fondo plano: los dedales, ya con los mosquitos, son colocados en un soporte

de madera de 30 cm. de largo, que tiene capacidad para 11 dedales en cada lado (Fig. 12). El uso de esta técnica para el mantenimiento de *Haemagogus* adultos ha sido descrita por Osorno (1944) y por Bates y Roca (1945a). Los dedales tienen en el fondo una capa delgada de algodón absorbente cubierta con un disco de papel de filtro, con el fin de evitar que el mosquito se enrede en el algodón; los dedales son tapados con copitas hechas de anejo de aluminio, ajustándose la superficie externa de éstas a la parte interior de aquéllos; en la parte superior de la tapa se coloca un pedazo muy pequeño de algodón embebido en una solución débil de agua azucarada, la cual sirve como fuente intercurrente de alimento. Es muy importante que el algodón del fondo de los dedales sea siempre conservado húmedo, pero en grado tal que no permita la formación de gotas de agua. Los dedales son revisados diariamente y una pequeña cantidad de agua es colocada con una pipeta a los que parezcan estar secos. Aparentemente el *Haemagogus spegazzinii* alcanza una máxima longevidad cuando es mantenido en una atmósfera relativamente seca, pero con una fuente de humedad permanente; esto se consigue colocando los dedales en una incubadora, en la cual un abanico eléctrico mantiene una constante circulación de aire. Hemos encontrado que la temperatura constante de 30° C. es la más favorable para la multiplicación del virus en el mosquito, y ésta ha sido usada rutinariamente en todos los experimentos.

Como los mosquitos son mantenidos en dedales separados, es muy fácil llevar la historia de cada uno de ellos. Cada lote de mosquitos infectados recibe el número correspondiente de orden, numerándose individualmente al mismo tiempo los mosquitos que forman dicho lote. Cada dedal lleva un rótulo con el número del lote y el número correspondiente a cada mosquito. Para prueba de transmisión individual de mosquitos, cada uno pica a un ratoncito de 3 días de edad; en esta edad los ratones son altamente susceptibles al virus de fiebre amarilla, inoculados por vía extraneural (Bugher, 1941). Los ratoncitos que han sido picados son dejados con la madre. La caja recibe el correspondiente número de orden, los ratoncitos son marcados en la cola con puntos tatuados con tinta china, tatuándose tantos puntos como sea el número que le corresponde a cada ratoncito; generalmente un grupo de ratoncitos de 3 días de edad, sólo cuenta con unos 4 ó 5 ejemplares, (el último ratoncito, o sea, el 4º o el 5º no es tatuado). En esta forma es posible saber qué ratoncito ha sido picado por determinado mosquito. Para transmisiones en micos u otros mamíferos de mayor tamaño que los

ratoncitos, varios mosquitos pican al mismo tiempo al animal. Como ya dijimos, la historia de cada uno de los mosquitos es llevada cuidadosamente; en esta forma, una vez que los mosquitos de determinado experimento han sido probados en su capacidad transmisora, pueden ser triturados e inoculados intracerebralmente a ratones, a fin de comprobar su contenido de virus, o también pueden ser conservados a voluntad, para nuevas transmisiones.

La presencia del virus en mosquitos infectados puede ser puesta de manifiesto hasta 24 horas después de la muerte natural de ellos; este método suministra a menudo datos de gran utilidad en determinados experimentos. Cuando es necesario matar los mosquitos para la inoculación a ratones, el método usado puede afectar el contenido del virus, tal como ha sido demostrado por Waddell (1945); así, por ejemplo, el cloroformo tiene una fuerte acción virucidal. El ácido cianhídrico, que es altamente mortal para los mosquitos, carece de esta acción. Rutinariamente usamos este último método cuando los mosquitos son matados para ser inoculados como investigación de virus. Un método que encontramos muy satisfactorio para matar mosquitos con ácido cianhídrico, consiste en la preparación de un frasco de regular tamaño y con boca ancha, que permita el paso del dedal que contiene el mosquito, semejante a los usados por los colectores de mariposas. Los mosquitos mueren muy rápidamente y pueden ser triturados sin peligro de escape. Los frascos para matar mosquitos con ácido cianhídrico pueden ser preparados fácilmente, así: unos pocos gramos de cianuro de potasio (dos o tres terroncitos del tamaño de un frijol) son colocados en el fondo del frasco; hecho esto se cubre con 2 o 3 centímetros de aserrín, colocándose luego una capa de yeso de París, la cual se deja secar por unas 24 horas antes de poner en uso dicho frasco. Un frasco preparado en esta forma conserva su potencialidad por muchos meses.

Se debe anotar que el método para la conservación individual de mosquitos, tal como lo hemos descrito antes, es muy adecuado para varias especies de *Haemagogus*, pero no tan favorable para otros, pertenecientes a las especies de *Aedes* o *Psorophora*. Estas especies viven generalmente mucho más tiempo si son conservadas en cajas pequeñas, manteniéndose en ellas una atmósfera húmeda. Al trabajar con diferentes especies de mosquitos, es necesario hacer muchas pruebas en condiciones diferentes para cada una, siendo así que ellas pueden diferir profundamente en las condiciones apropiadas para su mejor conservación.

Resumen.

El presente artículo tiene por objeto describir las técnicas empleadas en el laboratorio de Villavicencio (Meta, Colombia) para el estudio y mantenimiento del virus de la fiebre amarilla. Las características de dicho virus son mencionadas brevemente. Se trata también sobre la susceptibilidad a la fiebre amarilla del ratón blanco de la cepa Albino-Suiza, y se describen las técnicas sobre el empleo de tales animales en los experimentos para averiguar la presencia de virus. Asimismo se explican detalladamente los métodos usados en la titulación de virus y en las pruebas de especificidad y protección. Se hace referencia a la susceptibilidad al virus de la fiebre amarilla presentada por algunos primates colombianos y se habla sobre el empleo que se les da en el laboratorio a tales animales en los estudios sobre virus. Tanto el aislamiento del virus amarillo de casos sospechosos de infecciones humanas como las técnicas usadas para la conservación del mismo, en forma desecada, se describen en el presente artículo, como también los métodos empleados en la manipulación de mosquitos en el laboratorio, haciendo especial referencia a las técnicas adoptadas en los estudios de transmisión con mosquitos de género *Haemagogus*.

SUMMARY

The object of this article is to describe techniques used for the study and maintenance of the virus of yellow fever in the laboratory at Villavicencio, Colombia. The characteristics of yellow fever virus are briefly described. The susceptibility of white mice of the "Swiss" strain is discussed, and the technique of their routine use for tests of the presence of virus described. The methods of virus titration, specificity tests and protection tests are explained in some detail. The susceptibility of Colombian monkeys to yellow fever virus and their use as laboratory animals in virus studies are described. The isolation of yellow fever virus from suspected cases of human infection is discussed and the technique of preserving virus by desiccation described. Methods of handling mosquitoes in the laboratory are described, with special reference to techniques adapted to transmission studies with *Haemagogus* mosquitoes.

Nº _____ NOMBRE _____ SEXO _____ EDAD _____ PESO _____

LUGAR DE CAPTURA _____ LLEGADO AL LAB FECHA _____ ESTADO: _____

INFECCION

FECHA	VIRUS	DOSIS	METODO USADO	CONTROL -D.M.L.R. -

SANGRIAS

[illegible]

PRUEBA DE PROTECCION

[illegible]

OBSERVACIONES GENERALES

AUTOPSIA

FIGURA 13.—EJEMPLOS USADOS PARA HISTORIA DE GRUPO DE RATONES INOCULADOS, QUE MUESTRAN EL COMPORTAMIENTO TÍPICO DE TRES DIFERENTES CEPAS DE VIRUS DE FIEBRE AMARILLA

Forma 32

B-51560
GRUPO DE RATONES

	15	17	19	21	23	25	27	29		
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	V	+								
5	V	V	V	V	V	V	V	V	1	E M + → D-51593
4	V	V	V	V	V	V	V	V	1	E M +
3	V	V	V	V	V	V	V	V	1	E M + = 5/5
2	V	V	V	V	V	V	V	V	1	E M M + A.S.T.
1	V	V	V	V	V	V	V	V	1	E E M + 10.2
T	0/6	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
ORIGEN DEL VIRUS <i>Asiatic R. 112 - Dil. 10⁻¹</i>										
RAZA DE RATONES <i>Swiss</i> 15.II.45 FECHA										

SIGNOS CONVENCIONALES:

V = VIVO Y SANO
I = SOSPECHOSO
E = ENFERMO
M = MORIBUNDO
F = SACRIFICADO
+ = MUERTO

Forma 32

B-56790
GRUPO DE RATONES

	22	24	26	28	31	2				
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	V	V	V	V	V	E	+			
5	V	V	V	V	V	E	+			= 6/6
4	V	V	V	V	V	E	+			A.S.T.
3	V	V	V	V	V	M	+			5.7
2	V	V	V	V	V	M	+			
1	V	V	V	V	V	E	M	+		
T	0/5	0/6	0/6	0/6	0/6	3/6	3/6	1/6	0/6	
ORIGEN DEL VIRUS <i>S.V. (Francés) Bogotá 1 - Dil. 10⁻¹</i>										
RAZA DE RATONES <i>Swiss</i> 22.I.46 FECHA										

Forma 32

V-2327
GRUPO DE RATONES

	17	19	21	23	25	27	29	31		
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	V	V	V	V	V	V	E	E	+	
5	V	V	V	V	V	V	E	E	M	+
4	V	V	V	V	V	V	E	E	M	M
3	V	V	V	V	V	V	E	E	M	M
2	V	V	V	V	V	V	E	E	M	M
1	V	V	V	V	V	V	1	M	M	E
T	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	5/6	5/6	4/6	3/6
ORIGEN DEL VIRUS <i>Vacuna Bogotá 243 Dil 10⁻¹</i>										
RAZA DE RATONES <i>Swiss</i> 17.IV.45 FECHA										

FIGURA 14.—FORMAS USADAS PARA LLEVAR LAS HISTORIAS DE ANIMALES INOCULADOS CON VIRUS DE FIEBRE AMARILLA

REFERENCIAS

Bates, M.

1944a. - The saimiri monkey as an experimental host for the virus of yellow fever. *Am. J. trop. Med.*, 24: 83-89.

1944b. - Experiments with the virus of yellow fever in marsupials, with special reference to brown and grey masked opossums. *Am. J. trop. Med.*, 24: 91-103.

Bates, M. and M. Roca-García.

1945a. - Laboratory studies of the saimiri-haemagogus cycle of jungle yellow fever. *Am. J. trop. Med.* 25: 203-216.

1945b. - The douroucouli (*Aotus*) in laboratory cycles of yellow fever. *Am. J. trop. Med.*, 25: 385-389.

1946. - Experiments with various Colombian marsupials and primates in laboratory cycles of yellow fever. *Am. J. trop. Med.*, in press.

Bauer, J. H. and E. C. Pickels.

1940. - Apparatus for freezing and drying virus in large quantities under uniform conditions. *J. exp. Med.*, 71: 83-88.

Boshell - Manrique, J.

1938. - Informe sobre la fiebre amarilla silvestre en la región del Meta, desde julio de 1934 hasta diciembre de 1936. *Rev. Fac. Med. (Bogotá)*. 6: 407-427.

Bugher, J. C.

1940. - The demonstration of yellow fever antibodies in animal sera by the intracerebral protection test in mice. *Am. J. trop. Med.*, 20: 809-841.

1941. - The use of baby mice in yellow fever studies. *Am. J. trop. Med.* 21: 299-307.

Bugher, J. C., J. Boshell - Manrique, M. Roca-García and R. M. Gilmore.

The susceptibility to yellow fever of the vertebrates of eastern Colombia. I. Marsupialia *Am. J. trop. Med.*, 21: 309-333.

Bugher, J. C., J. Boshell - Manrique, M. Roca - García and E. Osorno Mesa.

1944. - Epidemiology of jungle yellow fever in eastern Colombia. *Am. J. Hyg.*, 39: 16-51.

Davis, N. C.

1930a. - Susceptibility of capuchin (*Cebus*) monkeys to yellow fever virus. *Am. J. Hyg.*, 11: 321-334.

1930b. - The susceptibility of marmosets to yellow fever virus. *J. exp. Med.*, 52: 405-415.

1930c. - The transmission of yellow fever. Experiments with the "woolly monkey" (*Lagothrix lagotricha*), the "spider monkey" (*Ateles ater*) and the "squirrel monkey" (*Saimiri sciureus*). *J. exp. Med.*, 51: 703-720.

1931. - The transmission of yellow fever. Further experiments with monkeys of the new world. *Am. J. trop. Med.*, 11: 113-125.

Davis, N. C. and R. C. Shannon.

1929. - Studies on South American yellow fever. III. Transmission of the virus to Brazilian monkeys. Preliminary observations. *J. exp. Med.*, 50: 81-85.

Fox, J. P. and Sven Gard.

1940. - The preservation of yellow fever virus. *Am. J. trop. Med.*, 20: 447-451.

Kerr, J. A. and L. Patiño Camargo.

1933. - Investigaciones sobre fiebre amarilla en Muzo y Santander. *Rev. Hig. (Bogotá)*. 3: 1-32.

Kumm, H. W., E. Osorno-Mesa and J. Boshell-Manrique.

1946. - Studies on mosquitoes of the genus *Haemagogus* in Colombia. *Am. J. Hyg.* 43: 13-28.

Laemmert, H. W. Jr.

1944. - Susceptibility of marmosets to different strains of yellow fever virus. *Am. J. trop. Med.*, 24: 71-81.

Lynch, C. J. and T. P. Hughes.

1936. - The inheritance of susceptibility to yellow fever encephalitis in mice. *Genetics*, 21: 104-112.

Osorno-Mesa, E.

1944. - Organización de una colonia de *Haemagogus equinus* Caldasia, 3: 39-45.

Reed, L. J. and H. Muench.

1938. - A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.*, 27: 493-497.

Sawyer, W. A. and W. Lloyd.

1931. - The use of mice in tests of immunity against yellow fever. *J. exp. Med.*, 54: 533-555.

Sawyer, W. A., W. Lloyd and S. F. Kitchen.

1929. - The preservation of yellow fever virus. *J. exp. Med.*, 50: 1-13.

Soper, F. L., H. A. Penna, E. Cardozo, J. Serafin. Jr., M. Frobisher and J. Pinheiro.

1933. - Yellow fever without *Aedes aegypti*. Study of a rural epidemic in the valle de Channaan, Espirito Santo, Brazil. *Am. J. Hyg.*, 18: 555-587.

Stokes, A., J. H. Bauer and N. P. Hudson.

1928. - Experimental transmission of yellow fever to laboratory animals. *Am. J. trop. Med.*, 8: 103-164.

Theiler, M.

1930. - Studies on the action of yellow fever virus in mice. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 24: 249-272.

1933. - A yellow fever protection test in mice by intracerebral injection. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 27: 57-77.

Waddell, M. B.

1945. - Persistence of yellow fever virus in mosquitoes after death of the insect. *Am. J. trop. Med.*, 25: 329-332.

Waddell, M. B. and R. M. Taylor.

1945. - Studies on cyclic passage of yellow fever virus in South American mammals and mosquitoes. I. Marmosets (*Galithrix aurita*) and cebus monkeys (*Cebus versutus*) in combination with *Aedes aegypti* and *Haemagogus equinus*. *Am. J. trop. Med.*, 25: 225-230.

Whitman, L.

1943. - A modified intraperitoneal protection test for yellow fever based on the greater susceptibility of immature white mice to the extraneural injection of yellow fever virus. *Am. J. trop. Med.*, 23: 17-36.

PSICOLOGIA DEL PREESCOLAR. DESARROLLO DE LA CONDUCTA HUMANA NORMAL DE LOS 3 A LOS 7 AÑOS DE EDAD.

Por Mercedes Rodrigo Bellido, Directora de la Sección de Psicología de la Universidad Nacional.

Siguiendo el camino iniciado en estas charlas sobre la psicología de la conducta humana a través del transcurso de la vida, nos corresponde en la lección de hoy detenernos a considerar al niño en su período preescolar, en su primera infancia según algunos autores o en la segunda para otros, en la época de su vida comprendida aproximadamente entre los tres y los siete años de edad.

Cada período del desarrollo del ser humano tiene su importancia especial. Para la madre cada fase de la vida de su hijo es igualmente valiosa e importante, y consciente de sus deberes, procura comprenderlos e interpretarlos inspirándose primero en su generalmente acertado instinto, y cada día con mayor frecuencia, en el consejo y dirección de las personas y organizaciones especializadas en cuestiones infantiles.

Los psicólogos por su parte también, desde Rousseau a nuestros días han ido demostrando mediante sus investigaciones que cada etapa de la infancia presenta sus necesidades propias y sus problemas, sus intereses, etapas que es preciso conocer, interpretar y respetar.

Actualmente es universal el reconocimiento de la importancia del estudio científico del niño en sus primeras edades. Susan Isaacs, en su primoroso libro titulado "Años de Infancia", publicado en 1944 nos dice: "Los niños necesitan, de todo nuestro afecto y simpatía, pero necesitan también, toda nuestra inteligencia y nuestros pacientes y serios esfuerzos para comprender las formas de su crecimiento mental, dice la autora, integral diríamos nosotros. No podemos dejar esto a los maestros profesionales, continúa diciendo Susan Isaacs, pues aparecen en el escenario de la vida del niño demasiado tarde. Cuando los niños vayan a la escuela, algunas de las cosas más importantes que han de sucederles, están ya en el pasado. A la luz de recientes estudios psicológicos se puede afirmar que

las principales líneas de la conducta del niño están para ese entonces fijadas firmemente.

Este interés creciente por todas las cuestiones referentes a los niños y que insistimos en atribuir en parte, a la decidida actuación de la mujer, se manifiesta en los más diversos aspectos. En una muy interesante conferencia Miss Kattherine F. Lenroot, Jefe de la Oficina del Niño de Washington pronunciada en la Agrupación Universitaria del Uruguay en 1943 sobre "El niño de hoy y de mañana" se hacen manifestaciones de interés que conviene recoger y divulgar, dada la autoridad de la Institución que representa su autora. "El servicio social nos ha hecho comprender mejor la importancia de individualizar el estudio del niño. El trabajo social, la educación, la psicología y la psiquiatría nos han enseñado que cada niño tiene que ser tratado como un individuo único, que nunca ha habido uno igual y que nunca será duplicado. Aún los hijos de los mismos padres, criados bajo las mismas condiciones domésticas, son diferentes en cuanto su vigor físico, inteligencia, carácter, felicidad personal y afectividad social. El trabajo social nos ha ayudado a reconocer la importancia de estudiar *todos* los aspectos de la vida del niño considerado integralmente. En el Informe General aprobado por la conferencia de la Casa Blanca sobre los niños en 1940 se declara que con excesiva frecuencia se ha dejado de reconocer una verdad muy sencilla: que el niño no puede ser cortado en pedacitos; uno para los padres, otro para el maestro, etc. El niño es un sér indivisible en su crecimiento del bebé al hombre y se debe prestar los servicios como tal sér integral. Además en el trabajo social se ha reconocido que este niño integral no es una entidad aislada, sino que lleva en sí mismo su vida mental, sus emociones, su conjunto físico y que hay que considerarlo en relación con las personas del ambiente en que se desarrolla".

Esta misma complejidad de la psicología infantil fue vislumbrada por Madame Yoteyko en 1910, es decir a principios de este siglo, cuando todavía no eran tan precisas las técnicas psicológicas, ni habían llegado a ocupar plano tan preferente como hoy día estos estudios, cuando los profesores Claparede, Bovet al organizar en 1912 el Instituto J. J. Rousseau de Ginebra, destinado a los estudios psicológicos, manifestaban en su primer programa de trabajos, "que la ciencia del niño no se encuentra en los libros; la psicología del niño es una ciencia joven, en la que los alumnos de este nuevo Instituto están llamados a colaborar". Pues bien, en aquella época Mme. Yoteyko, la autora de estudios básicos sobre la fatiga, decía que el niño se

presenta como un complejo muy embrollado, que sus aptitudes, sus tendencias, sus instintos, su temperamento, sus cualidades y sus defectos, unidos a su constitución física y a las influencias del medio, hacen de él a primera vista un sujeto de estudio inextricable. Y la complejidad aumenta por el hecho de que el niño es un sér que vive en el espacio y en el tiempo como el hombre adulto, pero se diferencia en que él evoluciona en el tiempo y en el espacio y por consecuencia su conocimiento del tiempo y del espacio sufre transformaciones continuas.

Ahora bien, en nuestros días constituye preocupación primordial la necesidad de desentrañar los problemas que cada época de la vida del sér humano plantea, para lograr en todo momento la mejor adaptación a las condiciones ambientales. Pero tal vez este período de la vida del niño, hasta muy recientemente ha sido menos investigado que otros; por eso hoy día todo estudio sobre la edad preescolar despierta interés, en parte, por corresponder a la llamada por el Dr. Ricardo Steuerwald de Chile, "*Edad abandonada*" y además porque actualmente, por reacción, se estudia con preferencia este período de la vida infantil, de tanta trascendencia para el tratamiento y preparación del niño para su futura vida escolar.

El Profesor Wallon de la Universidad de París en su estudio sobre el desarrollo psíquico del párvulo en la escuela maternal, que corresponde al período de la vida del niño del que nos ocupamos hoy, opina que el niño a los 3 años ya es consciente de su personalidad como algo distinto a su ambiente; los cuatro años están marcados por el despertar de la destreza manual; en la misma época comienza el desarrollo afectivo y de los cuatro a los seis años es un período de imitación que ayuda al niño a asimilar el mundo exterior. Según Wallon cuando el niño sale de la escuela maternal a los seis años ya está preparado para la actividad objetiva.

Limitaciones lógicas de tiempo, imposibilitan la presentación de cuadros completos de la conducta humana en las distintas etapas de su desarrollo, como ambiciosamente señala el programa que nos hemos trazado para estas charlas. Así pues en cada una de estas etapas lo que haremos simplemente es destacar algunos aspectos de ellas, los que parezcan de mayor interés actual, o aquellos que por vocación o azares de la vida han sido objeto de nuestra mayor atención. El hecho de explicar estas lecciones en la Facultad de Medicina y el estar especialmente dedicadas a sus estudiantes, nos parece suficiente justificación para detenernos algunos minutos en un problema de tan fuerte contenido humano como lo es la delicada

morbilidad de los niños de estas edades, que da lugar a la fuerte mortalidad infantil. Y esto lo hago aun corriendo el riesgo de que me acusen de apartarme del terreno puramente psicológico.

Ante la afirmación rotunda y concreta de persona de excepcional autoridad en estudios de la infancia, como Gesell, de que "La tercera parte de las muertes de la nación ocurren antes de los seis años" parece plenamente justificado plantear siempre que se presente la ocasión, la realidad de hecho tan cruel e inculcar el virus de la preocupación para conseguir la colaboración de cada uno en la medida de sus fuerzas con el fin de lograr día por día la eliminación de las causas productoras.

Felizmente la historia de las recientes centurias demuestra la posibilidad de enormes progresos y el gradual descenso de la mortalidad indica que la ciencia médica y sanitaria va ganando terreno constantemente. Los índices de mortalidad tanto de adultos como de niños dependen de muchos y complejos factores. Las condiciones económicas, el medio ambiente, los niveles moral e intelectual y como es natural los progresos de la ciencia médica, se reflejan de modo especial en la vitalidad de los niños. Se ha dicho incluso, que la mortalidad infantil de un pueblo es un barómetro de su progreso social.

En recientes años, hasta la última hecatombe bélica, la vida humana había tomado más valor, el individuo también y las obligaciones morales impulsaban a salvar el mayor número de vidas. Aunque todavía queda mucho por hacer, el progreso en este sentido es inmenso.

Haciendo un poco de historia, como todos ustedes saben, en el siglo XVIII la más persistente y universal de todas las enfermedades fue la viruela. Según datos que parecen fidedignos, muy pocos individuos, probablemente no más del 4% de los que alcanzaban la edad de 30 años escapaban a esta plaga. Gracias a los importantes trabajos de Jenner, poco después de 1800, cuando se demostraron las ventajas de la vacunación, la aplicación de este nuevo preventivo se hizo obligatoria para los niños en muchos países. Como consecuencia inmediata la viruela cesó de hacer estragos y las muertes debidas a esta enfermedad descendieron muy considerablemente.

En la primera mitad del siglo XIX progresa incesantemente la ciencia médica, es más sana la alimentación, se hacen importantes progresos sanitarios y se mejoran las viviendas. Los efectos de estos cambios se registraron en una disminución general del índice de mortalidad y en particular en una reducción de la mortalidad infantil. Pero el siglo XIX se terminó

antes de que quedara establecido un programa social referente a este problema. La protección al niño no se había valorado suficientemente y la obligación de defenderle contra la ignorancia de sus padres, todavía no era doctrina aceptada. Fue necesario el advenimiento del siglo XX para la aplicación de métodos generales preventivos que en años recientes han obtenido magníficos resultados. Entre tanto, el fatalismo y las supersticiones han ido desapareciendo y todo padre y madre saben ya hoy día que ricos y pobres pueden ser salvados de muchas enfermedades de la infancia y evitar muchas muertes.

Aunque esto es cierto, también lo es según el Dr. Carlos M. Barberousse, médico de Sanidad Escolar de Montevideo, que todavía la patología del niño de ambiente de desahogo económico es distinta a la del niño de ambiente pobre o de miseria. "Son distintas, dice, las enfermedades; de donde se deduce lo que condiciona la patología del niño en cualquier edad, es su situación social, haciendo de estas enfermedades, enfermedades sociales. Aunque cueste decirlo, existe una pediatría para el niño rico distinta de la pediatría para el niño pobre"; pero agregamos nosotros, también es cierto que en uno u otro caso cada día hay más médicos e instituciones preparadas para la prevención y curación de las enfermedades de la infancia.

La era de la prevención mediante la intensificación de los métodos para salvar vidas humanas, empieza a principios del siglo XX y desde ese tiempo a esta parte se han obtenido magníficos resultados. Probablemente los descubrimientos de Pasteur han influido de modo definitivo y han dado mayor estímulo y ataque efectivo a las enfermedades que cualquier otro factor. Desde entonces se han salvado muchas vidas, pero todavía no se ha alcanzado el límite del progreso.

Según una estadística americana en un período de aproximadamente 30 años el índice de mortalidad infantil por 1.000 nacimientos vivos fue el siguiente:

1900	1915	1925	1930	1933
143	99	68	60	53

lo que indica un descenso constante a consecuencia de la efectividad del trabajo preventivo y educativo.

En el mundo entero se hacen constantes esfuerzos para reducir la mortalidad infantil. Durante muchos años y por lo menos hasta 1940, Australia, y en particular Nueva Zelanda han ocupado el primer puesto en su trabajo de la reducción de la mortalidad infantil. El Bulletin de L'Office International D'Hygiène Publique, resume un estudio que contiene intere-

santes informaciones sobre la organización de la higiene de la primera infancia en Nueva Zelanda donde gracias a la unidad de dirección de los servicios y a la aplicación sistemática de las reglas de higiene de la primera edad, se ha podido reducir la mortalidad infantil hasta en más de un 50%. Esta organización consiste principalmente en dar a las madres instrucción para el cuidado y alimentación del recién nacido mediante el establecimiento de hogares destinados a recibir a las madres y a los niños, complementando la organización con un sistema de visitadoras sociales de formación muy especializada. En Nueva Zelanda desde 1921 la diarrea de verano prácticamente ha desaparecido y actualmente toda muerte de niño de corta edad que se deba a errores de alimentación, es considerada como un caso excepcional y como una verdadera desgracia pública.

En Europa, los países nórdicos y especialmente Suecia son los que han realizado mayores progresos en este sentido.

En América del Sur hay grandes variaciones. Mientras en Chile, por ejemplo, sigue siendo problema de extraordinaria gravedad, en la Argentina y en Uruguay es de menor cuantía y además se trabaja intensamente para obtener cada vez mayor reducción.

Mortalidad infantil.

Hé aquí algunos datos tomados del Anuario General de Estadística de Colombia, según el cual la mortalidad infantil de 1940 a 1944 arroja las siguientes cifras:

Mortalidad infantil en Colombia.

1940	1941	1942	1943	1944
64.599	71.023	76.060	82.129	80.496

Que el problema existe es indudable. Los números de manera implacable lo ponen en evidencia. También es cierto que se estudian e implantan constantemente acertadas medidas para aminorarlo. Pero ya lo ven ustedes. No es suficiente el esfuerzo hay que intensificarlo y a modo de llamamiento les voy a transcribir algunos párrafos de un emocionado artículo del Dr. Pedro Daniel Martínez, Director General de Higiene y de Asistencia Infantil de México proponiendo medios para hacer llegar la asistencia médica al niño, como uno de los medios más eficaces para intentar disminuir la mortalidad infantil.

"...Y nosotros los médicos qué hemos hecho? Debemos tener en cuenta que la bondad técnica de las labores de salubridad y asistencia, no depende, por lo menos totalmente de una Secretaría sino de nosotros mismos. Nuestra preparación,

nuestra ideología y nuestro esfuerzo son los factores decisivos. Como es natural el asunto tiene sus raigambres desde la preparación del médico en las aulas universitarias; desde allí podemos entrever el camino que tendrá que recorrer en el futuro la labor higienizadora de México. Por de pronto la Universidad Nacional de México y otras de provincias envían al campo cada año, centenares de estudiantes que sin esperarlo ven cambiar bruscamente su ambiente universitario, por uno rural y primitivo, para muchos totalmente desconocido. El éxito de su estancia en el campo dependerá de su preparación ética y técnica. Este brillante ensayo permite que muchas comunidades rurales se pongan en contacto con un médico por primera vez y que el estudiante no sólo beneficie más o menos a determinado número de personas o que conozca y conviva las ingentes necesidades del campo y la patología de zonas tan diversas como las que posee nuestro país, sino muy especialmente que se percate íntegramente de la responsabilidad profesional y que reconozca los profundos vínculos de la medicina práctica con los problemas sociales y familiares. Este es un buen procedimiento para hacer llegar la asistencia médica al niño campesino. Las demandas más frecuentes son para atender niños enfermos, por lo tanto es primordial la buena preparación pediátrica en el estudiante de medicina. La práctica rural no debe ser el refugio de los incapaces, porque allí es donde la medicina, para ser eficaz necesita ejercitarse con más sabiduría y alta ética".

Reconozco mi pecado de salirme de las disquisiciones dogmáticamente psicológicas de las que parece natural ocuparse cuando le piden a uno que hable de psicología. Lo reconozco, pero no me arrepiento y antes bien, me temo incurrir de nuevo en él más de una vez. Y además, por el contrario, considero *muy psicológico*, plantear problemas humanos, despertar inquietudes en la juventud, señalar caminos por donde ustedes mismos con entusiasmo y vocación (*vocatio de vocare, vocatum - llamar*) que viene de llamamiento, puedan empezar a caminar llenos de entusiasmo, buscando la satisfacción íntima y recóndita y hacer de la medicina no una profesión sino un apostolado.

Por comodidad y deseo de dar la mayor sistematización posible a estas lecciones hoy también como en la segunda nos iremos ocupando sucesivamente de las diversas facetas que se presentan en la evolución del niño desde los 3 a los 6 ó 7 años.

Desarrollo motor. Desde el principio de este período el niño ya puede empezar a bastarse a sí mismo, ya se sostiene sobre

sus propios pies, anda, explora sus alrededores, pronto ayuda a vestirse y a desnudarse. Atarse los zapatos es el nivel característico de los 4 años. En este momento necesita una atmósfera de afectuoso estímulo para adquirir hábitos de limpieza y orden. Los niños que no reciben este afecto y este estímulo en este período de intenso desarrollo responden generalmente mediante una conducta pasiva y de sumisión. El error más frecuente de los padres durante esta fase es la protección exagerada que no permite al niño seguir normalmente su evolución.

Aunque el desarrollo infantil es continuo, entre los 2 y los 4 años supone gran progreso para su independencia. El desarrollo motor está íntimamente relacionado con la personalidad total del niño. No se puede medir sin hacer intervenir elementos de comprensión intelectual y la atención. Incluso algunas habilidades motrices se han encontrado que están relacionadas con la adaptación social. Las diferencias individuales en la actividad muscular pueden tener relaciones básicas con la personalidad. En este período de la vida, el niño prospera mucho en las actividades musculares.

Las Profesoras Audemars y Lafendel, directoras de la maravillosa "Casa de los Niños", de Ginebra, fundada e inspirada por mi maestro Claparede, tras largos años de estudio y observación de la infancia, han podido establecer un cuadro de la evolución de las actividades espontáneas del niño desde los 3 hasta los 16 años. Lo dividen en tres períodos y los dos primeros corresponden justamente a las edades que venimos estudiando esta tarde.

El primer período se refiere a niños de 3 a 5 años y el segundo a niños de 5 a 7 años, pero teniendo en cuenta las grandes variedades individuales, los límites de edad son aproximados nada más.

Según estas autoras en el primer período el niño adapta las cosas a sí mismo, a su fantasía, a sus necesidades, es el período de la actividad puramente muscular y mecánica; en el segundo la actividad motriz se une a la actividad mental, el niño pasa a la creación intencionada. En el primer período la actividad es instintiva, maquinal es el movimiento por el movimiento y el pensamiento está embotado por la acción; en el segundo la actividad es reflexiva, el movimiento tiene en cuenta un fin y la acción provoca el pensamiento.

Para apreciar la marcha normal en la evolución de los niños a partir de los 4 años puede aplicarse la *escala métrica* de desarrollo de la psicomotricidad de Ozeretzki, ampliamente conocida y utilizada en la mayoría de los laboratorios europeos.

Esta escala consta de 6 pruebas para cada edad figurando entre otras para los 4 años, ejercicios tales como mantenerse en pie con los ojos cerrados en determinada postura, saltar, colocar 20 piezas en una caja con la máxima rapidez; para 5 años, tenerse sobre la punta de los pies, con los ojos abiertos, las manos caídas y las piernas juntas, enroscar un hilo en un carrete, mostrar los dientes sin hacer movimientos superfluos; para 6 años dibujar trazos verticales, golpear con un martillo de percusión a diversos intervalos sobre la mesa, etc.

Desarrollo mental. El niño evoluciona rápidamente desde los 2 hasta los 7 años, aunque el ritmo del desarrollo varía de un individuo a otro porque a la capacidad innata, potencial original, se adiciona lo que influye sobre él, los factores ambientales. Este es el período de los intereses intelectuales generales, habiéndose llamado el cuarto año de la vida, *la edad interrogante* o edad de las preguntas, y esta curiosidad y ansia de saber tiene gran importancia no tan sólo como adquisición del lenguaje sino para ayudarle a la comprensión del mundo en que vive. Una compañera mía de estudios en Ginebra, Mlle. Veihl, hizo un estudio del mayor interés sobre los *por qué* de un niño de 6 años. Mediante conversaciones diarias de 2 horas durante 10 meses recogió y analizó 1.125 *por qué* de un niño de 6 a 7 años. Hay niños que llegan a formular hasta 33 preguntas por hora, algunas incluso de muy difícil contestación, pero el adulto consciente, sabiendo que es una etapa normal y necesaria para el desarrollo mental infantil, debe armarse de paciencia, sencillez y seguridad para contestarlas lo mejor y más sinceramente posible, puesto que según ya dijo Fenelón "La curiosidad del niño es una inclinación de la naturaleza que va delante de la instrucción".

El niño tiene una manera especial de darse cuenta del mundo que le rodea que no es igual a nuestra mentalidad de adulto. Para Piaget el sucesor de Claparede en la cátedra de psicología en la Universidad de Ginebra, el pensamiento del niño entre los 3 y los 7 años es intermedio entre el pensamiento simbólico y el pensamiento lógico. Otro rasgo fundamental del pensamiento infantil es su carácter autístico. Piaget ha encontrado en sus originales investigaciones que el pensamiento simbólico es autístico en casi todas sus manifestaciones y semiautístico en las demás, es decir, que es más o menos estrictamente individual, incommunicable e independiente de la vida social. Piaget designa con el nombre de *egocentrismo* del pensamiento infantil a este carácter intermedio entre el autismo integral de un ensueño incommunicable y el carácter social de la inteligencia adulta.

Justamente en la época en que hacíamos nuestros estudios en Ginebra, el Profesor Piaget, genial investigador de la infancia, hoy conocido en el mundo entero, empezaba sus primeros ensayos de su "Método Clínico" aplicado a los niños con el que ha esclarecido fundamentales problemas de la psicología infantil. Tuve la suerte y el honor de contarme entre sus primeras colaboradoras en sus trabajos sobre el animismo infantil; pero después tuve también la desgracia de perder todo el trabajo acumulado en bastantes años y entre otros documentos las respuestas llenas de poesía recogidas durante muchas horas de conversación con niños españoles, principalmente madrileños y asturianos. No obstante, aunque no con documentación propia, no resisto la tentación de darles algunos ejemplos del empleo del método clínico destinado a descubrir cómo se forma en el niño la imagen del mundo. La técnica es la siguiente: se pregunta al niño, por ejemplo: ¿sabes lo que es pensar? cuando estás aquí ¿piensas en tu casa o en tu mamá? ¿con qué cosa piensas? Si no entiende se le dice: cuando andas, andas con los pies, bien y, cuando piensas, ¿con qué piensas? Según Piaget el niño hasta los 6 años cree que piensa con la boca; entre los 6 y 8 años piensa con la frente y con el corazón; a los 8 años el niño piensa con la cabeza, pero el pensamiento sigue siendo para él algo material; aire, sangre, una bola, etc.

Veamos otro ejemplo en la evolución de la idea de la sombra. Se comienza haciendo una sombra con un papel y se pregunta: ¿por qué hay aquí una sombra? ¿De dónde viene esta sombra? Mira, tú también haces sombra: ¿con qué la haces? Si tú te mueves, puedo yo sujetar tu sombra como una sombrilla? En esta prueba las etapas son las siguientes: para el niño de 5 años la sombra emana de los objetos y de la noche; entre los 6 y 7 años la sombra emana sólo del objeto; a los 8 años la sombra es una sustancia que huye de la luz. En cuanto al animismo, el niño a los 3 años cree que el sol y la luna le siguen cuando va por la calle y que si él marcha en determinada dirección, el sol y la luna siguen la misma e igualmente cree que las nubes tienen intenciones y que hacen lo que quieren.

Es muy útil hacer tests mentales con los niños de estas edades y cada vez se utilizan más. Exigen mucho tiempo y práctica, son delicados de hacer, pero al pediatra le deben interesar los resultados. Es imposible dar idea completa del extraordinario número de tests mentales que existen ya hoy para apreciar el desarrollo mental de los niños de 3 a 7 años. Nos limitaremos por tanto a citar los de Kuhlmann que forman una nueva escala de inteligencia hecha a base de la revisión del de Binet con 3.000 niños de Minnesota, publicada en 1938 y la ya citada Nue-

va Revisión de Terman-Merril de 1937. Con la aplicación sistemática de estas escalas a crecido número de sujetos se sabe ya con certeza por ejemplo, que los niños de 3 años perciben antes las diferencias que las semejanzas, que de 3 a 4 años se distinguen diferencias de color, que la percepción de formas es más tardía, que la primera actitud del niño ante un grabado es la simple enumeración etc., nociones todas ellas cuyo conocimiento debe ser imprescindible para los adultos que en una u otra forma actúan alrededor del niño pequeño sea en el hogar o en la escuela materna.

Claro que existe gran variabilidad en el tiempo de la madurez psicológica en las diversas épocas de la vida, y conviene por ello basarse para actuar en la observación clínica de cada niño; teniendo siempre en cuenta que el mejor tiempo para educarle es cuando él mismo indica que está preparado para ser educado. Los procedimientos educativos introducidos prematuramente, no tan sólo son ineficaces, sino que pueden ser perjudiciales originando después desórdenes en la conducta.

También son del mayor interés los estudios del profesor Piaget referentes al desarrollo del lenguaje en niños de 2 a 7 años. Los inició recogiendo textualmente lo hablado por un grupo de párvulos que trabajaba en el ambiente exquisito de amplia libertad de la "Casa de los Niños" de Ginebra. Todo lo hablado corresponde a dos grupos: lenguaje egocéntrico y lenguaje socializado. Como ya se ha dicho el conocido investigador suizo ha demostrado el egocentrismo del pensamiento infantil por diferentes técnicas. Además es una verdad de todos conocida que el niño pequeño no habla más que para él, no piensa más que en él y todo converge alrededor de él. Es cierto que habla constantemente, pero lo que dice no se dirige en realidad a los demás; su conversación casi no es más que un soliloquio egocéntrico. Hace frases sin ocuparse de si le escuchan. Ejemplo: Dos niños trabajan juntos y uno de ellos dice: "Yo hago la escalera, míra" y el otro contesta: "Yo no puedo venir esta tarde, tengo clase de gimnasia" y continúan en sus actividades impertérritos. En esta etapa, el niño no se hace escuchar de otro interlocutor. Habla para sí delante de otros. Esta especie de *monólogo a dos o colectivo* es la más socializada de las formas del lenguaje egocéntrico. Fases anteriores son la simple *repetición*, en la que el niño repite por el placer de hablar y el verdadero *monólogo*. Entre los 6 y 7 años el niño monologa mucho, tanto cuando está entre otros niños como cuando está solo. Las palabras no tienen función social, todavía no sirven especial-

mente para comunicar el pensamiento, sino para acompañar o reforzar la acción.

El lenguaje socializado propiamente dicho consiste en órdenes, preguntas, críticas e informaciones adaptadas. El coeficiente de egocentrismo, o sea la relación entre los dos lenguajes, se ha encontrado que oscila entre 0.54 y 0.60 entre los 3 y 4 años y de 0.43 a 0.47 a los 6 años. Proporción considerable, que descende con la edad como se ve, teniendo en cuenta que no se trata más que del pensamiento hablado no de la masa enorme y fecunda de pensamientos inexplicables que el niño guarda en sí mismo por falta de palabra para ordenarlos y para expresarlos.

En general, uno de los factores que más influyen en la adquisición del lenguaje es el medio social en que vive el niño, hecho muy bien recogido, puesto en evidencia y valorado por la profesora suiza Alice Descobudres, también maestra mía, mujer extraordinaria por su sabiduría y modestia, quien ha llevado a cabo uno de los estudios básicos del desarrollo del niño de 2 a 7 años en diversos espectos y en especial en lo referente al lenguaje para cuya apreciación ha establecido una *escala de tests de lenguaje*, desgraciadamente puede decirse que desconocida en la bibliografía americana, y que yo quisiera ensayar con niños colombianos si se encuentran colaboradoras o colaboradores entusiastas que quieran realizar labor callada y oscura pero intensamente patriótica.

Desarrollo emocional. El período preescolar es muy importante porque durante él pueden surgir varios problemas de ajuste de la conducta. Una de las razones para prestar delicada atención a los niños en estas edades es que el desarrollo es mucho más rápido que después, que en estos momentos son muy impresionables y hay que aprovechar para establecer en ellos hábitos deseables. Por eso también es especialmente difícil la actuación de los adultos. La extrema autoridad de los padres interfiere también el desarrollo natural al imponer un plan de acción que puede estar en oposición con el del propio niño. La crítica y la corrección constantes también son perjudiciales. Ejemplos de trastornos de la conducta son el negativismo, la resistencia y las dificultades en la alimentación que suelen ocurrir entre los 2 y 3 años y que son siempre el resultado de ansiedad y de autoinseguridad. El origen de este período de resistencia en esta primera infancia que determina la ansiedad radica muchas veces en el ambiente en que vive y al cual el niño es incapaz de ajustarse. Muchas veces el mal ajuste ocurre, cuando la vida conyugal de los padres no es feliz, cuando la

madre no da al niño suficiente cariño o es excesivamente nerviosa, cuando el padre es dominante, etc. Hay niños negativistas, rebeldes y destructores en el hogar que tienen buena conducta en el Kindergarten y esta conducta a veces persiste por varios años llegando incluso hasta la vida adulta.

El fetichismo de la *obediencia ciega* es un grave error; no se trata de hacer esclavos ni de hacer complejos de inferioridad; hay que obtener la *obediencia de cooperación*. Un período de negativismo es natural en las edades de 2 a 5 años. Representa el creciente sentimiento de independencia del niño. Cuando los padres insisten inaplazablemente en la estricta obediencia se intensifica la conducta del despecho, rencor, odio incluso, o por otra parte este naciente sentimiento de independencia puede ser repelido conduciendo al pequeño ser en plena evolución a una sumisión morbosa o a una retirada de la realidad. En general, lo mejor para los padres y los maestros es aprobar siempre lo bueno que haga el niño e *ignorar* lo más posible la conducta mala. Haciendo esto desde muy pronto se pueden evitar castigos posteriores. No hay duda de que es mucho más eficaz la educación positiva que la negativa. En lugar de repetir constantemente "No hagas esto" o "no hagas aquello" es mucho más efectivo decir "haz esto por favor" porque el niño es un buen crítico innato y en ocasiones les conviene a los padres preguntarse: "Qué pensará el niño de mí".

La *conducta agresiva* es la expresión del deseo del niño de llevar a cabo su propio plan de acción. En estas primeras edades si no es excesiva es conveniente bien dirigida. La excesiva agresividad es con frecuencia la respuesta a la exagerada indulgencia de los padres, particularmente cuando está mezclada con exceso de autoridad o en el caso de existir antagonismo entre los padres acogiendo el niño a la madre con fuerte oposición hacia el padre o viceversa. El niño agresivo pretende dominar todas las situaciones armando escándalo hasta obtener lo que desea. Si tiene éxito repite siempre la misma técnica.

Las *rabiets* son de las manifestaciones más corrientes en los 4 primeros años de la vida. Explosiones de rabia se encuentran en muchos niños que tienen padres de temperamento irascible. Influencias somáticas tales como la enfermedad, la fatiga o el hambre aumentan la irritabilidad. El mejor tratamiento para evitarlas es igualmente no darse por enterado de tales rabiets; que comprenda el niño que no tiene resultados positivos con ellas, claro que los padres necesitan dominarse mucho para permanecer impassibles.

El miedo es otra reacción frecuente en estas edades y en gran número de ocasiones sugerido por la acción de los adultos.

Entre los 2 y los 5 años disminuye grandemente la frecuencia de las respuestas miedosas a estímulos concretos, miedo a cosas que pueden verse u oírse por ejemplo y aumentan los miedos de imaginación generalmente estimulados por los cuentos de miedo, contados incluso muchas veces por personas extrañas al ambiente familiar del niño. El miedo a la oscuridad es probablemente el más común en la primera infancia y puede ser también el resultado de actuaciones adultas equivocadas y peligrosas tales como encerrar a un niño en un cuarto oscuro como castigo. Conviene y se puede evitar este miedo entrando en una habitación oscura con una luz que después se apaga y quedándose con el niño para que adquiera confianza.

Con lo dicho basta para darse cuenta de lo delicado y consciente que tiene que ser el trato de los niños en estas edades y la prueba de que cada día se concede mayor importancia a estas cuestiones es el hecho de funcionar ya en algunos servicios de pediatría una consulta psiquiátrica. Del contacto entre psiquiatra y pediatra han surgido ya una serie de modificaciones muy beneficiosas de procedimiento en el cuidado de los niños. Ha variado por ejemplo el criterio en la toma de datos de la historia clínica tales como alimentación, hábitos de vida, interés de modo especial el *cuándo*, el *cuánto* y el *cómo* de diversas actividades. El pediatra descubre así por sí mismo elementos generadores de la conducta en la vida y educación del niño que antes pasaban inadvertidos y que le permiten proyectar la terapia con criterio más completo, teniendo en cuenta los aspectos psicológicos del problema.

Desarrollo social. El niño en esta época de la vida todavía es individualista y poco social. El mayor tiempo lo pasa solo o con objetos materiales o juguetes. Hasta los 4 años y a veces hasta los 7 no se da cuenta de las acciones de otros niños. Sus relaciones sociales son muy ligeras. A veces en las escuelas maternales se forman grupos espontáneos de dos a cinco niños pero no están juntos más que algunos minutos. Los adultos son todavía para los niños de 5 a 6 años, fuente de satisfacción emocional y social.

No obstante en la edad preescolar ya se pueden observar tipos de niños excesivamente retraídos, conducta que coincide con exagerada protección materna; tipos de especial agresividad, que se encuentran entre niños que sufren de falta de atención en el hogar.

Como ejemplo de rasgo social especial se puede citar el tipo de conducta descrito con el nombre de *celos* o *envidia* más frecuente entre niñas que entre niños. En un estudio hecho so-

bre 70 niños se observó su conducta en conexión con el nacimiento de un nuevo miembro de la familia, variando en ellos desde los ataques físicos directos al hermano menor, a la ignorancia absoluta de su presencia. En algunos casos se opera un cambio completo en la personalidad, mal genio, negativismo, desarrollo de la timidez etc. En general parece que la aparición de la envidia tiene relación con la edad; aparece más frecuentemente entre los 2 y medio y los 4 años. Otro hecho comprobado es que la frecuencia con que aparece la envidia disminuye con el aumento del número de niños en la familia. Los padres deben preparar al niño antes de la llegada de un nuevo hermano para obtener que las primeras reacciones hacia el recién nacido se cambien de hostilidad en posesión y responsabilidad.

Aunque en la lección pasada declaramos opinión contraria a la tendencia a mandar demasiado pronto a los niños a las guarderías y casas cunas no creemos contradecirnos si hoy en cambio propugnamos la conveniencia de la asistencia de niños de 4, 5 y 6 años a escuelas maternales, jardines de la infancia o como quiera llamarse a este tipo de instituciones tan llenas de encanto y ambiente acogedor que ayudan a los niños a adquirir mayor seguridad en sí mismos y a socializarse más fácilmente. Además la escuela maternal, como su propio nombre lo indica, prolonga la educación familiar. Según el Dr. Adler la escuela maternal es "la mano prolongada de la familia". Como todo en este mundo, ofrece ventajas y presenta inconvenientes. Entre las primeras pueden considerarse el que la escuela maternal ofrece al niño la oportunidad de estar con otros niños de su edad y esto es muy útil cuando se trata del hijo único; suministra medios de juego mejores que en el hogar y el ambiente es muy favorable para el desarrollo del lenguaje. El exceso de atención de la madre perjudica al niño y en el jardín de niños se beneficia del contacto con otros compañeros. Muchos niños establecen hábitos rutinarios con mayor facilidad cuando los aprenden en presencia de otros niños. Además el niño educado en un medio familiar poco consciente de su deber o compuesto por personas egocéntricas desarrolla con exceso su sentimiento de inferioridad y es sabido que del grado de confianza que en sí tenga un niño depende su valor y su capacidad vital. Este sentimiento de autodomínio o seguridad en sí mismo, según Adler debe empezar desde los primeros pasos fuera del hogar, en la escuela maternal primero, en la escuela primaria después para sostenerle en su vida futura. Un buen comienzo le evitará muchos escollos y le ahorrará en todo caso después, como vemos con tanta frecuencia la necesidad de una reeducación completa más tarde.

Entre los inconvenientes pueden contarse el riesgo de las infecciones para las que tan predispuestos están los niños en estas edades. También en muchas instituciones de este tipo hay excesivo movimiento y poco descanso. Incluso sólo la sesión matinal puede ser demasiado larga para algunos niños y puede dar por resultado hiperactividad, irritabilidad, insomnio, anorexia e incluso pérdida de peso.

En todo caso la decisión de si puede mandar o no a un niño a una escuela maternal debe tomarse teniendo en cuenta la personalidad del niño y la de los padres, el tipo de escuela de que se puede disponer, el número de horas de clase. La edad en que un niño puede ser enviado varía también con el niño, el medio familiar y la escuela. Hay niños que ni aún a los 4 años están en condiciones de aceptar un nuevo medio. La dificultad más frecuente consiste en la separación de la casa del niño muy mimado. El gritar cuando se va la madre, las náuseas, los vómitos, el negarse a jugar con otros niños, la timidez, el rechazar el alimento, las rabietas, las desobediencias, son mecanismos de defensa que ya se han vencido en la casa y aparecen después a veces al ir al nuevo medio ambiental. De todos modos es preciso no olvidar que la escuela maternal puede suplementar el cuidado del hogar, pero nunca reemplazarlo.

Quedan infinitos aspectos sin tocar de la psicología del niño en la edad preescolar. Insisto en que es imposible pretender, que ustedes, estudiantes de medicina, aprendan psicología en estas lecciones, tan necesariamente incompletas. Mis ilusiones se verían colmadas si con ellas lograrse simplemente despertar el interés y la afición por estos estudios, respeto y veneración para toda actividad profesional en relación con la infancia, y honda preocupación médica por problemas siempre actuales tales como el "Hospitalismo" y la Mortalidad Infantil.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DEL SARAMPION CON SUERO DE CONVALECIENTE POR VIA INTRADERMICA

Por el Dr. Antonio M. Alvarez Riaño.

Entre los procedimientos que confieren un mayor grado de protección contra esta enfermedad, el suero de convaleciente aplicado por la vía intradérmica aventaja a los demás. Allan Bloxsom lo comprobó recientemente en los Estados Unidos con pocos casos y aquí, en mayor número de ellos, alcancé también gran eficacia profiláctica con el sistema. Para el tratamiento del sarampión tuve ocasión de aplicarlo en 13 casos, dando resultados alentadores, como se verá adelante. Al sarampión se atribuye una supuesta benignidad en todos los casos; por eso se deben tratar, aunque someramente, varios aspectos del tema que justifican y explican el empleo de este procedimiento. Hay que saber si la inmunización es necesaria; hacer un breve análisis de la terapéutica biológica usada hasta hoy en el sarampión; tratar nociones de la inmunidad en él; explicar la técnica empleada tanto para la inmunización como para el tratamiento y, finalmente, exponer los resultados obtenidos.

Necesidad de la inmunización.

Contagiosidad del sarampión. La contagiosidad del sarampión es de todos conocida y está sujeta a condiciones especiales que la acrecientan, atenúan o ensombrecen. Ante un enfermo de sarampión el médico no debe pensar sólo en el caso aislado, sino averiguar la fuente de contagio, el grado de contagiosidad, la vía y el medio de posible difusión.

En los centros de población densa el sarampión principia sorpresivamente. En la mayoría de las veces un error de diagnóstico permite la entrada de un enfermo que va a ser fuente del contagio. La enfermedad tiende a desarrollarse por brotes epidémicos que son de corta duración, pero de intensidad alarmante en las salas de hospitalización o de asilo para niños; en

cambio duran más los desencadenados en barrios y ciudades de población numerosa.

El sarampión ataca principalmente a la niñez, y su peligrosidad aumenta en la primera infancia, en la aglomeración, la miseria y con la tuberculosis. En niños mayores, con más confort, holgura y salud, el sarampión es menos alarmante, aunque nunca es deseable.

Por contaminación directa se efectúa el contagio en la mayoría de los casos, pero por vecindad, sin contacto real, también existe frecuentemente. Está demostrado que un vehículo notable de la infección son las gotitas provenientes de la tos. El mal es contagioso desde el comienzo del período catarral y lo sigue siendo mientras se desarrolla la erupción, disminuyendo con la desaparición del exantema y ya al final de la descamación no lo es.

Mortalidad. Resumiendo las cifras de mortalidad por sarampión, suministradas por los Anuarios de la Contraloría en los años de 1938, 1940 y 1943 de toda Colombia, se ve que por esa causa hubo una mortalidad de 2.998, 393 y 1.683 defunciones respectivamente. Al mismo tiempo se puede observar que la mortalidad por sarampión fue en esos años de 1,99 por ciento, 0,29 por ciento y 1 por ciento con respecto a la mortalidad general. Toda enfermedad que se acerque al 1% de la mortalidad general debe poner en guardia a los encargados de prevenirla.

Otro dato impresionante es el gran número de defunciones en los niños de edades comprendidas entre 1 mes y 5 años. Son las cifras más altas y demuestran el crecido tributo que el sarampión hace pagar a niños de esa edad. El medio hospitalario aumenta y agrava la enfermedad cuando no hay sistemas de aislamiento y prevención.

Complicaciones. Si bien al sarampión se atribuye una supuesta benignidad, sus complicaciones son de lo más maligno y todas poseen un alto índice de mortalidad. Ellas obligan al médico, especialmente al pediatra, a vivir alerta con sus pacientes y prevenir el mal o atenuarlo cuando se haya presentado, sin descuidar la protección de los niños sometidos a contacto del enfermo.

De ordinario, el sarampión agrava una tuberculosis ya existente, despierta la que estaba en latencia y generaliza la localizada. Esto se debe a que coloca al organismo en una inferioridad biológica frente al bacilo de Koch. La notoria disminución de la alergia a la tuberculina, y aún la anergia, en el curso del sarampión, lo demuestran.

Otra complicación que ocasiona muchas veces la muerte es la bronconeumonía, a pesar de los modernos tratamientos para ella. Los gérmenes que la producen son distintos al virus morbilioso o lo secundan, pero es natural que obre la enorme baja de las defensas orgánicas para aumentar la gravedad.

La diarrea en el curso del sarampión ha sido considerada por unos autores como síntoma (doctrina francesa del enantema) y por otros como una complicación (teoría alemana de la disentería secundaria). En todo caso es un factor de ocurrencia casi absoluta que trastorna la nutrición del enfermo, sobre todo en la primera infancia, cuando la deshidratación es más rápida y difícilmente contrarrestable, comprometiendo todo su metabolismo.

Dejando a un lado otras complicaciones menos frecuentes pero no exentas de peligro, debo mencionar una olvidada por casi todos los prácticos, no rara, y de una gravedad inmensa: la encefalitis morbiliosa.

El sistema nervioso del niño tiene gran afinidad para algunos gérmenes ya provistos de neurotropismo. Otros, comunes, lo van adquiriendo. Especialmente los que producen exantemas es fácil que lleguen a lesionar el sistema nervioso, que hace parte del ectodermo interno, siendo atacantes de la piel, que pertenece al ectodermo externo. Según la doctrina de Van Bogaert el exantema es el resultado de una mayor lisis del ectodermo por la infección; mientras mayores sean las defensas del organismo, el exantema será más intenso. Además, antes de atacar al sistema nervioso, el germen tiene que vencer a la barrera hepática y después a la hematomenínea. Cuando ya las ha violentado, la lucha entre el organismo y el germen cambia de campo y pasa del ectodermo externo al interno, dando las encefalitis post-infecciosas.

El sarampión es la enfermedad que más frecuentemente complica al sistema nervioso, según los norteamericanos. Observan Litvak, Sands y Gibel que de cada 1.000 a 1.500 casos de sarampión, uno se ve complicado por síntomas referentes al sistema nervioso. El pronóstico de la encefalitis morbiliosa es reservado, pues el médico no cuenta con elementos eficaces de ataque; hay formas graves de ella en que el líquido cefalorraquídeo permanece normal, porque no hay relación entre su estado y la gravedad de la enfermedad. Dos casos de tal encefalitis tuve oportunidad de observar en reciente epidemia de sarampión, terminando ambos por muerte.

Terapéutica biológica del sarampión.

Varios productos biológicos son recomendados para su profilaxis y su atenuación: la sangre total, la sangre materna, el plasma, el suero sanguíneo de adulto inmune, el suero de convaleciente, la gama globulina (sero-inmune globulina humana) y la globulina placentaria (inmune globulina humana).

Antes de dar algunas nociones de estos productos, debo mencionar un factor de gran importancia en la resistencia al sarampión: las proteínas. Cannon, en estudio reciente considera decisivo el metabolismo proteico en la resistencia a las infecciones, pues, es un hecho anotado por él, que los gérmenes patógenos son albúminas extrañas y la resistencia a ellos es un problema de digestión proteica. Tales agentes, como proteínas extrañas, estimulan la producción de anticuerpos y la resistencia adquirida depende de la capacidad de generarlos en forma rápida, constante y suficiente. Por eso la hipoproteinemias resultante de los regímenes deficientes es causa de pérdida o baja de la inmunidad por disminución de la actividad fagocitaria y de la capacidad generadora de anticuerpos.

La sangre total, sea común o materna, es una compleja mezcla de elementos celulares y compuestos proteínicos en un medio líquido que corresponde en su composición al fluido intersticial orgánico; en ella se ha demostrado la existencia de los anticuerpos en mayor abundancia que en otros tejidos. En la sangre materna se agrega la comunidad de algunos caracteres humorales, lo que es otra garantía de éxito en la inmunización del niño. El plasma es la sangre sin los glóbulos, por eso reemplaza a la sangre total en esta indicación.

Suero sanguíneo. Me refiero al suero de un adulto sano que haya padecido sarampión. Su papel como preventivo ha tenido muchas críticas. En México el Instituto de Higiene suspendió en 1944 su producción por haberse decidido que no era útil. Sin embargo Federico Gómez jefe del Servicio de Lactantes del Hospital Infantil de aquella ciudad, trata de revalidar para el suero sanguíneo de adulto la eficacia protectora contra el sarampión. Llama la atención sobre la necesidad de usar dosis más altas que para el suero de convaleciente: si de éste bastan 5 c.c., del otro requiere dosis mayores. Así el mismo autor hace una experiencia con 32 niños a quienes aplicó inyecciones de suero de adulto y en algunos además de éste, sangre total, en cantidad de 30 a 50 c.c. repartidos en tres aplicaciones intravenosas, una cada 5 días. El resultado, según él, es muy seguro, únicamente se requiere el empleo de cantidad suficiente para

aplicar antes del cuarto día del probable contagio. El caso, fuente del supuesto contagio, no fue tan claro como para imponer la evidencia en el procedimiento.

A pesar de las dudas, el suero de adulto es un valioso elemento para la profilaxis del sarampión y siempre que se tenga a mano debe ser usado, a falta de otro mejor, pero siempre a dosis suficientes (20 a 50 c.c.).

Suero de convaleciente. Su empleo como profiláctico comienza a principios del siglo con Cenci (1901). Pero los trabajos decisivos al respecto fueron hechos posteriormente: Debré (Francia), Degkwitz (Alemania) y Gunn (Inglaterra) demostraron la efectividad profiláctica del suero de convaleciente.

En los últimos años en los Estados Unidos Stillerman, Marks y Thalhimer han determinado su uso estudiando cuidadosamente el tiempo de aplicación, las dosis y el porcentaje de protección.

La dosis efectiva determinada por esos autores fue de 10 a 20 c.c., según el número de contactos infectantes a que hubiera estado sometido cada niño. Además, con el tiempo han observado que son mejores las dosis altas (10 c.c. en menores de 1 año, 15 c.c. de 1 a 2 años y 20 c.c. de ahí en adelante) sus experimentos fueron practicados en 502 niños predispuestos al sarampión. Hubo una protección completa en el 50%, atenuación en un 49% y ninguna modificación en el 1%. Estos trabajos fueron verificados con inyecciones intramusculares.

Suero de convaleciente concentrado. Los niños más pequeños requieren una prevención mayor y en ellos las dosis de suero de convaleciente que dan los autores norteamericanos resultan excesivas por su volumen. Para obviar esta circunstancia Macchiavello (Santiago de Chile, 1943) usó el mismo suero concentrado mediante procedimientos suyos, permitiéndole emplear cantidades desde 0,5 c.c. hasta 10 c.c. de ese suero concentrado, por la vía intramuscular. El suero se concentra por evaporación del agua en la superficie de una bolsa hecha con material usado para diálisis a través de membrana semipermeable. La bolsa, generalmente de celofán, se suspende dentro de un desecador; su membrana deja pasar el agua y la concentración del suero se lleva al grado que se desee. La experimentación demostró a Macchiavello que el efecto preventivo y curativo del suero de convaleciente concentrado es superior al del no concentrado, y sugiere el uso sistemático de tal procedimiento.

"Gama globulina" en el sarampión. Es la sero-inmune globulina humana, obtenida por fraccionamiento del plasma y lue-

go concentrada. Su preparación es muy reciente (1944) y fue realizada por Cohn, Oncley, Strong y otros. Por el mismo procedimiento hasta ahora se han obtenido en forma de polvo blanco, además de la gama globulina, los siguientes productos: el fibrinógeno que en asociación con la trombina puede dar películas o espumas de fibrina (hemostático); las otras inmunoglobulinas (alfa y beta); las isohemoaglutininas (para determinación de grupos sanguíneos) y la albúmina (60% de las proteínas del plasma y usada en el shock).

En dos entidades ha demostrado su eficacia la gama globulina: en la hepatitis infecciosa epidémica y principalmente en el sarampión. En la primera es de utilidad como preventivo pero no como curativa. En el sarampión ha demostrado ser un material de alta potencia profiláctica y atenuante. Está en estudio su empleo en la tos ferina, prometiendo ya buenos éxitos.

Como respuesta a las inmunizaciones la gama globulina tiene un alza notoria y los anticuerpos aumentan también en proporción a aquélla. Deduce Bustamante (Chile) que por lo tanto es en la gama globulina donde se encuentra la mayor parte de los anticuerpos. La dosis a que se usa varía con el fin propuesto. Como preventivo entre 0,08 y 0,10 c.c. por libra de peso, aplicada dentro de los primeros 7 días después del contagio; la protección dura cerca de 3 semanas. Como atenuante del sarampión se usa la cuarta parte de la dosis profiláctica. Ellas pueden repetirse. Los autores que han trabajado con la gama globulina han obtenido protección completa contra el sarampión en un porcentaje que oscila entre 65,8 y 78,7; sarampión atenuado entre 21 y 31% y sarampión típico entre 2 y 3%.

Globulina placentaria. El uso de la inmune globulina humana, obtenida de placentas, en la profilaxis del sarampión fue introducido en 1933 por McKhann y Chu. Sin embargo la globulina placentaria se ha mostrado inferior a la gama globulina. En 1944 Greenberg y sus compañeros emplearon la globulina placentaria (inmune globulina humana) en 90 contactos similares, a la dosis de 5 c.c. por vía intramuscular. El sarampión intenso ocurrió en el 23,3%; hubo completa protección en el 38,9% y modificación en el 37,7%. Además se presentaron reacciones en el 41% de los inyectados. Estos datos demuestran la escasa protección alcanzada con la globulina placentaria, la frecuencia de sus reacciones y su poco valor en la práctica como atenuante del sarampión.

La vía intradérmica para el suero de convaleciente. En enero de 1945 aparece una comunicación preliminar de Allan Brox-

som (Houston, Texas) llamando la atención hacia un nuevo método más fácil y eficaz. Se trata del empleo del suero de convaleciente por la vía intradérmica. Bloxsom inyectó a 40 individuos, íntimamente expuestos, suero de convaleciente obtenido una semana después de la baja de la temperatura. La dosis empleada por el autor era de 2 c.c. repartidos en 5 inyecciones sucesivas de 0,4 c.c. diariamente, por la vía intradérmica. De los 40 casos hubo una protección absoluta en 36 de ellos (90%) y los 4 presentados manifestaron una atenuación evidente.

En dicha comunicación Bloxsom atribuye un carácter activo a la inmunidad provocada con la introducción de pequeñas dosis de suero por la vía intradérmica, dando tan alto grado de protección que en epidemias sucesivas no se contagian los inmunizados. Además agrega en las conclusiones que deben existir en el convaleciente, a los pocos días de padecer la enfermedad, suficiente cantidad de antígenos de sarampión para producir una inmunidad activa.

Sólo menciono este concepto, porque se ha demostrado que el suero de un organismo que haya adquirido una inmunidad activa, al ser inyectado a un organismo nuevo, le confiere una inmunidad pasiva, que es inmediata pero transitoria. Esta última inmunidad es la que ordinariamente se atribuye al suero de convaleciente de sarampión.

Técnica de las aplicaciones.

Para la inmunización. Los actos, desde la escogencia del dador hasta la inyección del suero, están sometidos a ciertas normas para que los efectos del procedimiento sean inocuos y útiles.

Es necesario que el dador se halle en período de convalecencia, ojalá que no exceda de 7 días el tiempo desde que terminó la enfermedad. Mejor si tuvo un sarampión sin complicaciones. Es absolutamente necesario que no padezca enfermedades infecciosas, crónicas o agudas, especialmente las transmitidas por la sangre. Un examen clínico riguroso y las pruebas de laboratorio necesarias, se practicarán. La sangre se toma preferentemente dentro de la primera semana de convalecencia, con todas las condiciones de asepsia, se deja coagular en nevera, se centrifuga y el suero es envasado en pequeños frascos estériles con tapón de caucho para su conservación en la heladera.

La dosis total en la mayoría de los casos fue de 2 c.c. repartida en 5 aplicaciones intradérmicas de 0.4 c.c. diariamente. Sin embargo, con dosis menores tuve éxito; en grupos de pocos ni-

ños dieron resultados favorables 4 dosis de 0.4 c.c., tres y aún una sola. Creo que se deben aplicar según lo reciente del comienzo en la convalecencia del dador y según la intensidad de la epidemia. El convaleciente de pocos días tiene más anticuerpos, más posibles virus atenuados y más globulinas que el de mayor tiempo.

Para el tratamiento. Los tiempos concernientes a la preparación del suero no difieren de los ejecutados para la inmunización. Hay mayor eficacia en la atenuación cuanto más pronto se inyecte; sin embargo, la aplicación de suero debe hacerse no importando el período evolutivo del sarampión, pues en cualquier época lleva a una mejoría manifiesta o a una prevención de las graves complicaciones de la enfermedad.

En los casos atendidos empleé dosis intradérmicas de 0.2 a 0.4 c.c. y en número de 1 hasta 5 en días consecutivos. Se pueden aplicar cantidades variables desde 0.2 hasta 0.5 c.c., repitiéndolas cada tercer día, o diariamente y aún aplicando 2 dosis en 24 horas, en número suficiente, según el criterio médico.

Resultados obtenidos.

En el Hospital de la Misericordia, en la institución de "Las Camitas Blancas" y en el medio familiar obtuve los casos para la elaboración de este trabajo. Logré reunir 90 para la inmunización y 13 para tratamiento, sólo incluyendo niños de edades entre 1 mes y 8 años.

Los resultados del empleo de este procedimiento con fines profilácticos pueden verse resumidos en el cuadro N° 1. En la primera columna aparece la fecha del comienzo de la aplicación. En la segunda, el material empleado (sangre materna, sangre total o suero de convaleciente). En la tercera, la dosis total de ese material para cada caso, en centímetros cúbicos; la dosis de sangre se aplicó de una vez en su integridad; la de suero en fracciones intradérmicas de 0.4 c.c. cada una. En la quinta, el número de días de seguro contacto infectante y probable contagio; es de notar que con el suero intradérmico, los contactos de 4 a 7 días dieron una respuesta satisfactoria; los de 15 días respondieron con baja o ninguna protección: el resultado se explica por el período en que se aplicó el material. En la sexta columna aparecen los casos de sarampión, presentados después de la aplicación. En los niños tratados con sangre, los casos hicieron erupción entre 11 y 20 días después, de modo que alcanzaron a aplicarse en la incubación o antes, es decir, en el período hábil para buscar la profilaxis. Los casos que aparecieron entre los niños tratados con suero intradérmico

co, lo hicieron entre 0 y 6 días; de modo que se hizo la aplicación ya en plena enfermedad. En la séptima columna aparece el porcentaje de protección; con la sangre ella fue alta, pero no igual a la del suero.

CUADRO No. 1.- PROFILAXIS DEL SARAMPION

Material, dosis, casos tratados y resultados obtenidos según el tiempo en que se aplicó.

Fecha	Material usado	Dosis para cada caso (c. c.)	Casos tratados	Días de contacto infec.	Casos de sarampión presentados	% de protección
May. 1	sangre mat.	10-15	9	6	3	66
« 6	« tot.	10-15	12	5	3	75
« 18	« mat.	25	8	4	2	75
« 29	sueros	2	15	5	0	100
« 29	«	1,6	1	5	0	100
« 29	«	0,8	2	5	0	100
« 29	«	0,4	1	5	0	100
« 29	«	2	16	7	0	100
Oct. 13	«	1,2	6	4	0	100
« 13	«	0,8	1	4	0	100
« 20	«	0,4	5	7	0	100
« 31	«	2	9	15	4	55
« 31	«	1,2	2	15	2	0
« 31	«	0,8	1	15	1	0
Dic. 11	«	0,8	2	7	0	100

Ordinariamente tiene el sarampión como promedio 10 días de incubación y de 3 a 5 de invasión. Así los casos en que apareció el exantema entre 0 y 6 días después, indican que el producto se comenzó a aplicar ya iniciada la enfermedad, es decir en período de invasión. Los que hicieron erupción entre 7 y 14 días después del comienzo de la aplicación, estaban seguramente dentro del período de incubación. Los que aparecieron con exantema entre 18 y 20 días después de que comenzó el uso del producto, no estaban aún en período de incubación. En el primer grupo lo que se practicó fue atenuación; en los dos últimos inmunización. En general el cuadro demuestra que cuando el contagio lleva más de 7 días, la protección con el suero es menor.

En cuanto a los 13 casos tratados exclusivamente con el suero intradérmico, los resultados fueron satisfactorios en líneas generales. Las dosis suficientes y oportunas atenúan to-

dos los síntomas de la enfermedad. Observé que el suero aplicado entre la aparición de la fiebre y la erupción, disminuye ésta última y además los fenómenos catarrales, congestivos y la fiebre. Inyectados en el comienzo de la hipertermia, la moderada y los síntomas bronco-pulmonares se reducen considerablemente.

Los cuidados higiénicos no deben desecharse y su empleo es secundario pero no despreciable. Ellos allanan el camino que ha de seguir la atenuación biológica.

En las complicaciones, sobre todo las bronco-pulmonares, hubo atenuación cuando el suero intradérmico se aplicó oportunamente. En dos casos se emplearon éste y la quimioterapia sulfamídica. No vi aparecer complicaciones encefálicas en los niños tratados con el suero desde el comienzo de la enfermedad. En un caso de encefalitis morbillosa, con síndrome convulsivo-somnolente, la aplicación del suero no impidió la muerte, probablemente por su empleo tardío, cuando ya el virus había efectuado un ataque intenso al sistema nervioso.

Conclusiones.

1 - La gran contagiosidad del sarampión y la gravedad de sus complicaciones hacen necesaria la inmunización, especialmente en los niños tuberculosos, distróficos, recién nacidos y hospitalizados.

2 - Entre los productos biológicos el que mayor grado de protección da es el suero de convaleciente tomado en la primera o en la segunda semana de convalecencia y aplicado por la vía intradérmica a dosis pequeñas y consecutivas por 3, 4 ó 5 días.

3 - La inmunidad conferida con el suero de convaleciente intradérmico es rápida, enérgica y durable.

4 - Con el suero de convaleciente, obtenido en los primeros días de su convalecencia, se logra, al aplicarlo por la vía intradérmica y oportunamente, una protección mayor (90 a 100%) que con sangre total (60%), suero de convaleciente concentrado, gama globulina (70%) y suero de convaleciente por vía intramuscular (50%).

5 - El grado de protección del suero de convaleciente intradérmico es tanto mayor cuanto más pronto se obtenga en la convalecencia. Da resultados satisfactorios obtenidos en las primeras semanas y mejores aún en la primera.

6 - El sarampión se puede evitar aplicando el suero de convaleciente intradérmico antes del séptimo día del período de

incubación. Entre 7 y 15 días reduce al minimum los síntomas de la enfermedad. De ahí en adelante la atenúa proporcionalmente a la precocidad con que se use.

7 - Es muy pequeña la cantidad de suero de convaleciente necesaria para la profilaxis, circunstancia que facilita su empleo especialmente en las epidemias con aglomeración de niños.

8 - El suero de convaleciente intradérmico tiene buen poder atenuante como para atribuir primera importancia a su empleo terapéutico. La erupción desaparece, en general, en menor tiempo; la temperatura es menos alta, casi un estado subfebril, y mejoría del estado general.

9 - En las complicaciones del sarampión (bronconeumonía, encefalitis, etc.) debe emplearse suero de convaleciente intradérmico, cuando sea posible hacerlo, sin desechar el uso de otras medicaciones indicadas.

10 - Cuanto más precoz sea la aplicación terapéutica del suero de convaleciente, mayor poder atenuante tiene.

11 - Es necesario emplear suero de convalecientes adultos o niños mayores, que hayan tenido un sarampión sin complicaciones y estén en buenas condiciones de salud.

12 - Es manifiesta la inocuidad del suero de convaleciente aplicado por la vía intradérmica.

"COMENTARIOS AL PROBLEMA PALUDICO DE PUERTO CARREÑO (VICHADA)".

Tesis de grado. 1946. — Presentada por Carlos Alfonso Ferro Vargas.

Conclusiones:

1) Los habitantes de Puerto Carreño están sometidos a condiciones higiénicas de vida notablemente precarias.

2) Los alimentos que se consumen no suministran el requerimiento calórico diario, no aportan la cantidad necesaria de vitaminas y elementos minerales y proporcionan un régimen carente de legumbres, cereales verdes y frutas y en el que predominan los azúcares y feculentos sobre las proteínas y grasas.

3) En la región de Puerto Carreño el paludismo es endémico con exacerbaciones en los meses de julio-agosto y diciembre-enero. Hasta ahora el más probable vector parece corresponder al *A. Nyssorhynchus Darlingi* y el Hematozoario al *P. Vivax* ya que en las coloraciones sanguíneas no fue posible identificar otras razas de parásitos.

4) Las formas perniciosas cerebrales se observan con alguna frecuencia en los niños. Otros casos palúdicos graves en niños y adultos son raros.

5) En el curso del paludismo agudo es relativamente frecuente la complicación hepática representada por Hepatitis o Angiocolitis acompañada de la sintomatología de un estado Ictérico infeccioso.

6) El Paludismo congénito existe aunque su porcentaje es pequeño a pesar de las malas condiciones en que se lleva a cabo la gestación. Su patogenia parece basarse en la permeabilidad placentaria al parásito, la cual puede ser provocada por la misma enfermedad palúdica o por un traumatismo acaecido durante el embarazo o por pequeños desgarros placentarios sufridos en el curso del trabajo.

7) Consecuencia directa de los factores que determinan la situación biológica del hombre en Puerto Carreño son su desnutrición y empobrecimiento fisiológico que le disminuyen la capacidad de trabajo y lo predisponen a la Infección Tuberculosa y a padecer estados anémicos graves y síndromes carenciales de alguna consideración.