

INCIDENCIA DE LA INFESTACION CON *LEPTOSPIRA ICTEROHAEMORRHAGIAE* EN LAS RATAS GRISES (*MUS NORVEGICUS*) DE LA CIUDAD DE LIMA

Por VÍCTOR M. AYULO R. y OLGA DAMMERT T.

*Departamento de Investigaciones,
Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública.*

(Recibido para su publicación el 30 de Setiembre de 1947)

Con el objeto de determinar la incidencia de infestación de las ratas grises (*Mus norvegicus*) con *Leptospira icterohaemorrhagiae* en la ciudad de Lima, pensamos con el Dr. TELÉMACO S. BATTISTINI realizar un survey en ese sentido, para lo cual aprovechamos las ratas atrapadas por cuadrillas especializadas del Servicio Nacional Antipestoso y realizamos la indicada investigación en 1,000 de estos roedores.

Hasta 1886 en que WEIL (5), (9) hace una exposición completa de la enfermedad que actualmente lleva su nombre, diferenciándola de los otros tipos de icteria aguda, describiendo 4 casos de esta dolencia en hombres jóvenes, prácticamente no se había hecho ninguna descripción detallada de la enfermedad, ni se la había individualizado del gran grupo de las icterias. A partir de esta fecha los trabajos se multiplican con la finalidad de determinar el agente etiológico de esta nueva entidad nosológica: la enfermedad de WEIL.

En el verano de 1905 en New Orleans se presentó una severa epidemia de fiebre amarilla, muriendo muchas personas a consecuencia de esta dolencia. En el curso de esta epidemia se realizaron numerosas investigaciones. STIMSON en 1907 (5), (70) en la ciudad antes citada, preparando cortes histológicos de cerebro, hígado, corazón y riñones de una persona muerta de fiebre amarilla, siguiendo la técnica de CAJAL-LEVADITI para *Treponema pallidum*, encontró un *Spirochaete* al que denominó: *Spirochaete interrogans*.

En Noviembre de 1914 INADA, IDO, HOKI, KANEKO e ITO, estudiando una epidemia de icteria febril en el Japón, descubrieron el agente etiológico de la enfermedad de WEIL.

Estos investigadores publicaron sus primeros resultados en Febrero de 1915 en japonés, y en 1916 (25) la versión inglesa, donde hacen una descripción minuciosa de sus investigaciones.

INADA y colaboradores observaron la presencia de *spirochaetes* en el hígado de un cuy inoculado con la sangre de un enfermo de ictericia infecciosa; observación que confirmaron algunos meses más tarde al repetir sus experimentos en cuyes, los que reprodujeron la enfermedad, presentando ictericia y hemorragias, encontrando *spirochaetes* en el hígado y en la sangre. Por otra parte señalaron la posibilidad de reinoculación del *spirochaete* de cuy a cuy utilizando las vías: oral, subcutánea e intraperitoneal, a la par que hicieron un estudio anátomo-patológico completo de las lesiones producidas en los diferentes órganos de este animal; haciendo la descripción de la morfología del *spirochaete* que habían encontrado. Así mismo, obtuvieron cultivos en el medio de NOGUCHI; demostraron que las heces y la orina de los pacientes son infestantes para el cuy; estudiaron el proceso inmunitario de esta enfermedad y dieron las medidas profilácticas más adecuadas y su tratamiento.

Como resultado de sus investigaciones establecieron el rol y especificidad del *spirochaete* encontrado por ellos en la ictericia infecciosa o enfermedad de WEIL, al que denominaron *Spirochaete icterohaemorrhagiae*, red denominando en consecuencia a la enfermedad *Spirochaetosis icterohaemorrhagica*.

Independientemente de los trabajos de INADA y sus colaboradores, los investigadores alemanes demostraron igualmente (1a), (9) que la enfermedad de WEIL era causada por un *spirochaete* el que fué denominado por HÜBENER y REITER (1915-1916) *Spirochoeta nudosa* y por UHLENHUTH y FROMME (1916) *Spirochoeta icterogenes*.

NOGUCHI en 1917 (53) crea el género *Leptospira* y denomina al *Spirochaete* descrito por INADA y sus colaboradores con el nombre de *Leptospira icterohaemorrhagiae*, red denominando a la enfermedad *Leptospirosis icterohaemorrhagica*.

Demostrado que la *Leptospira icterohaemorrhagiae* es el agente etiológico de la enfermedad de WEIL, los trabajos se encaminaron a determinar los posibles reservorios del virus.

MIYAJIMA en 1915 fué el primero en señalar la presencia de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en los riñones del pericote de campo *Microtus montebelli*. Este mismo investigador en 1916 reprodujo la enfermedad en el cuy por la inoculación en este animal de riñones de pericotes de campo (*Microtus montebelli*) portadores de *Leptospira*. Como resultado de estas investigaciones IDO, HOKI, ITO y WANI (1a) examinaron

diferentes especies de ratas (*Mus norvegicus* y *Mus alexandrinus*) encontrando igualmente *Leptospiras* en los riñones y orina de estos roedores, logrando también infestar cobayos. Los trabajos de los investigadores antes citados, así como los de ALSTON y BROWN (1a); ASHE, PRATT-THOMAS y KUMPE (5); ELTON (14); GAINES y JOHNSON (19); MARTIN y PETTIT (39); NICOLLE y LEBAILLY (50); UHLENHUTH (79); etc., comprobaron que algunas especies de ratas y de otros pequeños roedores, albergan a la *Leptospira icterohaemorrhagiae*, sin sufrir ninguna alteración orgánica y que la eliminan por la orina durante un largo período de su vida, lo que hace que estos animales se constituyan en peligrosos diseminadores de este agente etiológico. Estas observaciones han inducido a que se realice la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en las ratas en diferentes partes del mundo para determinar la incidencia de infestación de estos roedores.

Además de las ratas, que son los principales reservorios de la *Leptospira*, también la albergan otros animales como el perro, que es portador de la *Leptospira canicola*, como lo afirman ALSTON y BROWN (1a); MEYER, STEWART-ANDERSON y EDDIE (44); MOLNER y MEYER (48); RAVEN y BARNES (61); etc., habiéndose encontrado rara vez *Leptospira icterohaemorrhagiae* en gatos, chanchos, zorros y caballos (5).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para nuestro estudio utilizamos 1,000 ratas grises (*Mus norvegicus*) capturadas en la ciudad de Lima por cuadrillas especializadas del Servicio Nacional Antipestoso. Utilizamos solo aquellos animales que fueron cogidos vivos y que se sacrificaron en el momento del examen o aquellos que tuvieron muy pocas horas de muertos. Después de abierta la cavidad abdominal de cada animal, le sacamos los riñones, órganos en los cuales realizamos la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* por medio de cortes histológicos impregnados a la plata siguiendo la técnica de LEVADITI.

RESULTADOS

En el examen histológico de los cortes de riñón de las 1,000 ratas (*Mus norvegicus*), que sirvieron para nuestra investigación, hemos encontrado 283 (28.3 %) portadoras de *Leptospira icterohaemorrhagiae*.

En el cuadro N° 1, además de los resultados obtenidos por nosotros, damos una serie de surveys realizados por diferentes investigadores en

otras partes del mundo. Nos faltan algunos de los surveys realizados por no habernos sido posible encontrar los trabajos correspondientes a los mismos.

DISCUSIÓN

Después de los trabajos de INADA, IDO, HOKI, KANEKO e ITO, quienes demostraron que el agente etiológico de la enfermedad de WEIL era el *Spirochaete icterohaemorrhagiae*, denominado más tarde *Leptospira icterohaemorrhagiae* por NOGUCHI, la mayor parte de las investigaciones se encaminaron a determinar las fuentes de origen de la infección humana.

El hallazgo de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en los pericotes de campo: *Microtus montebelli* por MIYAJIMA, y en los riñones y orina de las ratas salvajes: *Mus norvegicus* y *Mus alexandrinus* por IDO, HOKI, ITO y WANI, así como el que estos animales sin sufrir ninguna alteración orgánica sean portadores de este agente infeccioso, eliminándolo por la orina durante largos periodos de su vida, ha hecho que se les considere como reservorios del virus y, por ende, como peligrosos diseminadores de este agente etiológico. Igualmente la circunstancia de que la mayor parte de los casos de leptospirosis humana descritos, estuvieran directa o indirectamente relacionados con la presencia de ratas, ha motivado el que la mayor parte de las investigaciones se hayan verificado con la finalidad de determinar hasta dónde las ratas de las diferentes localidades están infestadas, pues son muy contados los casos de origen canino.

La búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* se ha realizado en la mayor parte de los lugares en las ratas grises más comunes y que se encuentran directa o indirectamente en mayor contacto con el hombre, como son la *Mus norvegicus* o *Mus decumanus* y en menor escala en la *Mus alexandrinus* y *Mus rattus rattus*. Pero, debemos señalar que estas investigaciones no solo se han limitado a las especies antes mencionadas, sino que también se han hecho extensivas a otras, propias de ciertas localidades, como la *Mus rattus diardii*, *Bentink* y *Mus rattus griseiventris*, *Bonhote* en Malaya; la *Mus arvicanthus testicularis* en Sudan; *Gonomys varius* y *Nesokia bengalensis* en la India; *Suncus caeruleus varius* en el Japón; *Rattus exulans micronesiensis* en las islas Yap (Micronesia) y *Rattus culmorum* en Australia. Más aún, algunos investigadores no han limitado sus estudios solamente a las ratas, sino que los han hecho extensivos al pericote de campo: *Apodemus speciosus speciosus* y *Microtus montebelli* en el Japón y *Apodemus sylvaticus* en Inglaterra.

Para nuestro trabajo hemos elegido la rata gris: *Mus norvegicus*, porque esta especie por sus hábitos de vida está en mayor contacto con el hombre y ser la especie que predomina prácticamente en todas las ciudades del Perú.

Los procedimientos empleados por los diferentes investigadores para la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae*, son muy numerosos. En realidad podemos decir que cada investigador ha empleado el método que ha creído más conveniente. De ahí que muchos de los resultados obtenidos no puedan ser fácilmente comparables, lo que hace indispensable la standarización de los métodos a seguir en este tipo de investigación.

Para dar una idea más exacta, hemos agrupado los diferentes métodos seguidos en tres grandes grupos: A) Método directo o microscópico; B) Método indirecto y C) Método mixto, como puede apreciarse en el esquema adjunto.

METODOS SEGUIDOS EN LA BUSQUEDA DE LA LEPTOSPIRA ICTEROHAEMORRHAGIAE	
DIRECTO o MICROSCOPICO	- Examen en campo oscuro de emulsiones de riñón. - Examen en campo oscuro de emulsiones de riñón y orina. - Frotises de riñón coloreados por el método de Giemsa o Fontana. - Cortes histológicos de riñón coloreados por el método de Levaditi.
INDIRECTO	- Inoculación de emulsiones de riñón al cuy. - Inoculación de emulsiones de riñón, hígado, suprarrenales y bazo al cuy. - Prueba de protección. - Prueba serológica (aglutinaciones). - Cultivos.
MIXTO	- Examen en campo oscuro de emulsiones de riñón e inoculación de las mismas al cuy. - Examen en campo oscuro de orina y emulsiones de riñón e inoculación de estas últimas al cuy. - Examen en campo oscuro de orina y emulsiones de riñón; frotises de riñón teñidos por el método de Giemsa o Fontana e inoculación al cuy de emulsiones de riñón. - Frotises de riñón coloreados por el método de Giemsa o Fontana e inoculación al cuy de emulsiones de riñón. - Frotises de riñón coloreados por el método de Giemsa o Fontana; cortes histológicos de riñón coloreados por el método de Levaditi e inoculación al cuy de emulsiones de riñón. - Examen en campo oscuro de emulsiones de riñón, inoculación de las mismas al cuy y prueba serológica. - Examen en campo oscuro de emulsiones de riñón, inoculación de las mismas al cuy, prueba serológica y cultivos.

La mayoría de los partidarios del método directo han utilizado el examen en campo oscuro de las emulsiones de riñón, o el sedimento resultante del centrifugado de las mismas como COLES (10). Otros como SCHÜFFNER y KUENEN (81) han circunscrito su examen a la pulpa renal (túbulos contorneados) después de la adición de una pequeña cantidad de agua. Otros como ORTIZ (56) realizan esta búsqueda en los riñones y orina, llegando a la conclusión de: "Que no siempre ambos riñones presentaron el gérmen en estudio, lo que valora como más firme la investigación del parásito en la orina".

COLES y otros han utilizado como métodos de diagnóstico, frotises de riñón siguiendo las técnicas de GIEMSA o de impregnación a la plata conforme al método de FONTANA TRIBONDEAU. Finalmente otros como RIBEYRO (62) han utilizado exclusivamente cortes histológicos de riñón impregnados a la plata siguiendo la técnica de LEVADITI.

STEVENSON (75) utilizó para la búsqueda de la *Leptospira*, frotises teñidos por el método de GIEMSA y cortes de riñón coloreados por el de LEVADITI, considerando que: "Estos dos métodos de coloración dieron prácticamente resultados idénticos. En un solo caso fueron diferentes y en éste los cortes mostraron al parásito, mientras los frotises no".

Otro grupo de investigadores, que constituyen la mayoría, han realizado la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en forma indirecta, ya sea por medio de la inoculación de emulsiones de riñón al cuy (ARAGÃO DE BEUREPAIRE (2), FOULERTON (18), LHÉRITIER (36), BASILEWSKI (8), SOUCHARD (74), etc.); o por la inoculación en estos animales de la mezcla de riñón, hígado, suprarrenales y bazo (MARTIN y PETTIT (39), NICOLLE y BLANC (49), etc.); ya por cultivos de bazo (FLETCHER [16]); o realizando la prueba de protección en el cuy (NICOLLE y LEBAILLY).

Las inoculaciones en el cuy han sido hechas por vía subcutánea, intraperitoneal o intrahepática (E. VAN DE VELDE). WALCH (81) opina a este respecto: "que la inyección subcutánea causa menos complicaciones en el cuy que los otros métodos, pero es probablemente menos efectiva".

La prueba de protección consiste, en la aplicación a los animales que han sobrevivido a la primera inyección de una segunda de material más virulento. Se basa en el hecho de que muchas veces las *Leptospiras* de que son portadoras las ratas no son lo suficientemente virulentas para producir la enfermedad propiamente dicha en el cuy y por tanto su muerte, pero, se supone que esas cepas avirulentas inmunicen al cuy en tal

grado que estos animales resistan a una segunda inyección de material virulento.

Un tercer grupo ha realizado estas investigaciones combinando el examen directo en campo oscuro de las emulsiones de riñón con la inoculación de las mismas al cuy como JOBLING y EGGSTEIN (27), ROBINSON (64), SANDIFORD (67), etc. o el examen directo en campo oscuro de la orina y de las emulsiones de riñón con la inoculación de esta última al cuy (BUCHANAN [9]). Algunos como LÉPINE y colaboradores (35) además del examen directo en campo oscuro de orina, y de las emulsiones de riñón, han utilizado frotises impregnados a la plata siguiendo la técnica de FONTANA TRIBONDEAU, asociando estos exámenes a la inoculación al cuy de las emulsiones de riñón; o como ITURRE (26) han limitado el examen directo a la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en frotises de riñón teñidos por el método de GIEMSA o FONTANA con la inoculación de emulsiones de riñón al cuy; o han asociado a estos métodos los cortes histológicos de riñón impregnados a la plata siguiendo la técnica de LEVADITI (OTTERAAEN [57]). KIRK (29), SMITH (73) y otros asocian al examen directo en campo oscuro de las emulsiones de riñón, la inoculación de las mismas al cuy y la búsqueda de aglutininas específicas en el suero de las ratas examinadas. Finalmente, LANGWORTHY y MOORE (31) asocian al examen en campo oscuro de las emulsiones de riñón, la inoculación de las mismas al cuy, con la búsqueda de aglutininas específicas en el suero de las ratas examinadas y el cultivo en medios apropiados como el de NOGUCHI.

Cuando la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en las ratas, se hace con la finalidad exclusiva de determinar el índice de infestación de estos roedores, nos parece que el empleo de cualquiera de los métodos directos, ya sea el examen en campo oscuro de emulsiones de riñón, o de éstas y de orina, o la búsqueda por medio de frotises y en especial el de cortes histológicos de riñón impregnados a la plata, dan mejores resultados que el empleo de cualquiera de los métodos indirectos.

Los métodos indirectos y en especial el empleo exclusivo de la inoculación al cuy de emulsiones de riñón o de mezclas de suprarrenal, riñón, hígado y bazo como las que utilizan la mayor parte de los investigadores franceses, tienen de un lado el gran inconveniente de no revelar aquellos casos en los que la *Leptospira* no es patógena, obteniéndose en consecuencia, un índice de infestación inferior al verdadero y, de otro lado, el que los productos inoculados estén contaminados determinando la muerte de los cuyes por la infección secundaria concomitante, peligro que es mayor cuando se utilizan las vías intraperitoneal o intrahepática.

Otro tanto podemos decir en lo que se refiere a la prueba de protección.

En lo que respecta al empleo de cultivos de bazo nos parece tratarse de un método poco apropiado por cuanto la cantidad de *Leptospiras* en este órgano es inferior a la que se encuentra en el riñón y además por las contaminaciones; lo que le resta importancia como método diagnóstico.

Aún cuando el examen en campo oscuro de las emulsiones de riñón o de las modificaciones de esta técnica como la de COLES y en forma especial la de SCHÜFFNER y KUENEN; o el examen de éstas y orina; o el de frotises de riñón teñidos siguiendo la técnica de GIEMSA o de impregnación a la plata según la técnica de FONTANA TRIBONDEAU, tienen la ventaja de permitir un diagnóstico sumamente rápido, hemos empleado para nuestra investigación el método histológico de cortes de riñón impregnados a la plata siguiendo la técnica de LEVADITI, pues a pesar de tener el inconveniente de ser una técnica larga, nos parece la mejor, ya que revela con mayor exactitud la incidencia de infestación de las ratas con *Leptospira icterohaemorrhagiae*.

Pero, cuando la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* se realiza con la finalidad de determinar no solamente la incidencia de infestación de las ratas sino también la virulencia de las *Leptospiras*, creemos que el empleo de cualquiera de los métodos mixtos que hemos enumerado da mejores resultados.

Descripción de casos humanos de la enfermedad de WEIL se ha hecho en casi todas las partes del mundo, la mayoría de éstos en individuos que por razón de sus ocupaciones tienen que trabajar en lugares infestados de ratas, siendo entre éstos los trabajadores en pescado y en especial los cortadores y limpiadores de los mismos los más frecuentemente infestados, tal sucede en Aberdeen donde se la conoce con el nombre de la "Enfermedad de los trabajadores de pescado" (5), (14), (20), (33), (66), (72). Son también numerosos los casos descritos en buzoneros (5), (14), (33), (38); en los trabajadores de las plantaciones de arroz en el Japón, país donde la enfermedad es endémica (5), (14), (66); en los mineros (9), (33), (66), (71); en individuos que trabajan en mataderos (14), (33); mercados (33); etc. Además se han descrito casos en individuos que accidentalmente han contraído la enfermedad como los presentados en las trincheras durante la primera guerra mundial (14), (38), (46); o por haberse bañado en piletas o estanques contaminados con orina o excremento de ratas infestadas (5), (14), (23), (33), (78), (79); o por haber tomado aguas contaminadas con excremento de ratas

infestadas como sucedió en la epidemia de Lisboa en 1931 (21); o en los que trabajan en los canales como los casos descritos en Rotterdam (5); o en individuos que trabajan con ratas en los laboratorios (7).

La enfermedad de WEIL ha sido descrita también en individuos dedicados a múltiples ocupaciones como mozos de hotel, carpinteros, farmacéuticos, plomeros, leñadores, etc. (9), (33), (38), (66).

En nuestro país, apesar de que la incidencia de infestación con *Leptospira icterohaemorrhagiae* en las ratas grises es elevada, son muy contados los casos humanos descritos hasta el presente.

ARCE y RIBEYRO (3) en 1917 describieron el primer caso de "Espirquetosis icterohaemorrhagica" en un japonés asistido en el "Hospital 2 de Mayo" de la ciudad de Lima.

En 1921 ARCE (4) describió otro caso en un agricultor en el mismo hospital.

En 1920 NOGUCHI y KLIGLER (55) estudiando una epidemia de fiebre amarilla (?) en Paita, Piura y Morropón, llegaron a la conclusión: "que de 14 casos de fiebre amarilla estudiados en el Perú, en 4 se obtuvo una infección típica a *leptospira*, así como la demostración del organismo en los cuyes infectados experimentalmente, mientras que en la mayoría de los casos se observaron síntomas de una infección benigna a *leptospira*, no mortal. Solo en pocos casos los resultados fueron enteramente negativos".

Los casos descritos por estos investigadores parecen en realidad no ser de fiebre amarilla, sino más bien de *Leptospirosis icterohaemorrhagica*, porque además de ser aquella una enfermedad a virus, el agente etiológico encontrado en los casos estudiados por ellos, fué la *Leptospira*.

En 1941 ROGGERO (65) encontró 5 casos de la enfermedad de WEIL entre 34 de "Hepatitis icterigena" estudiados en el "Hospital 2 de Mayo".

¿Son en realidad tan pocos y tan esporádicos los casos de *Leptospirosis icterohaemorrhagica* en el Perú? Creemos que no, y pensamos que esto se debe a que muchos casos de esta dolencia no son debidamente diagnosticados. Estamos seguros de que una búsqueda más minuciosa daría por resultado el hallazgo de mayor número de casos de la enfermedad de WEIL en nuestro país.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Hemos realizado la búsqueda de la *Leptospira icterohaemorrhagiae* en 1,000 ratas grises (*Mus norvegicus*) en la ciudad de Lima, empleando para esta investigación cortes histológicos de riñón impregnados a la plata siguiendo la técnica de LEVADITI, llegando a la siguiente conclusión:

La incidencia de infestación con *Leptospira icterohaemorrhagiae*, en las ratas grises (*Mus norvegicus*) en la ciudad de Lima es de 28.3 %.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Leptospira icterohaemorrhagiae has been investigated in 1000 wild rats (*Mus norvegicus*) of the city of Lima using the silver impregnation technique of Levaditi on kidney sections, arriving at the following conclusion:

The incidence of infestation with *Leptospira icterohaemorrhagiae* for the wild rats (*Mus norvegicus*) of Lima city is 28.3 %.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALICATA, J. E. : *Science*, 105: 236, 1947.
- 1a. ALSTON, J. M. & BROWN, H. C. : *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 30: 741, 1937.
2. ARAGÃO, HENRIQUE DE BEUREPAIRE : *Brazil Médico*, 31: 329, 1917. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 11: 206, 1918.
3. ARCE, JULIÁN y RIBEYRO, RAMÓN : *Crónica Médica*: 355, 1917.
4. ARCE, JULIÁN : *Crónica Médica*: 65, 1921-22.
5. ASHE, WM. F., PRATT-THOMAS, H. R. & KUMPE, C. W. : *Medicine*, 20: 145, 1941.
6. BALL, H. A. : *American Journal of Clinical Pathology*, 3: 283, 1933.
7. BLUMENBERG, W. : *Zent. f. Bakt.*, 140: 100, 1937. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 35: 506, 1938.
8. BASILEWSKY, B. G. : *Zent. f. Bakt.*, 129: 502, 1933. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 31: 94, 1934.
9. BUCHANAN, G. : *Medical Research Council*, London. Special Report Series, Nº 113, 1927.
10. COLES, ALFRED, C. : *Parasitology*, 11: 1, 1918-19.
11. COURMONT, J. & DURAND, P. : *C. R. Société de Biologie*, 69: 275, 1917.
12. COURMONT, J. & DURAND, P. : *C. R. Société de Biologie*, 69: 277, 1917.
13. DAS GUPTA, B. M. : *Indian Med. Gaz.*, 73: 449, 1938. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 36: 114, 1939.
14. ELTON, N. W. : *American Journal of Clinical Pathology*, 9: 219, 1939.

15. FISCHER, I. A. : *Geneesk. Tijdschr. v. Nederl-Indië*, 70: 915, 1930. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 28: 309, 1931.
16. FLETCHER, WILLIAM : *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 265, 1927.
17. FORSYTH, W. LEONARD, & GOHAR, M. A. : *J. Trop. Med. and Hyg.*, 33: 191, 1930. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 28: 310, 1931.
18. FOULERTON, ALEXANDER G. R. : *Journal of Pathology and Bacteriology*, 23: 78, 1919-20.
19. GAINES, ARTHUR R. & JOHNSON, R. P. : *Archives of Internal Medicine*, 60: 817, 1937.
20. GLOTZER, S. : *Journal of the American Medical Association*, 110: 2143, 1938.
- 20a. HARTMANN, F. W. : *Science*, 106: 294, 1947.
21. HASCHEC, W. & TOBEY, F. J. : *Journal of the American Medical Association*, 113: 1319, 1939.
22. HASLÉ, G.; TOULLEC, F. & VANCEL, M. : *Bull. Soc. Path. Exot.*, 28: 551, 1925. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 33: 61, 1936.
23. HAVENS, W. PAUL; BUCHER, CARL J. & REIMANN, HOBART A. : *Journal of Bacteriology*, 40: 329, 1940.
24. HAVENS, W. PAUL; BUCHER, CARL J. & REIMANN, HOBART A. : *American Journal of the Medical Association*, 116: 289, 1941.
25. INADA, RYOKUCHI; IDO, YUTAKA; HOKI, ROKURO; KANEKO, RENGIRO & ITO, HIROSHI : *Jour. Exp. Med. and Hyg.*, 23: 377, 1916. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 8: 51, 1916.
26. ITURBE, JUAN Y GONZALES, EUDORO : *Gaceta Médicas de Caracas*, 25: 158, 1918. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 13: 277, 1918.
27. JOBLING, JAMES W. & EGGSTEIN A. A. : *American Journal of the Medical Association*, 69: 1787, 1917. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 11: 205, 1918.
- 27a. KALFAYAN, H. BERNARD : *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 40: 895, 1947.
28. KANEKO, KÔKICHI; KOTORII, SAIGÔ; AOKI, JOSHIO & MARIMOTO, TSUTOMU : *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 117: 202, 1935. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 33: 60, 1936.
29. KIRK, R. : *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 667, 1938.
30. KUNSTEIN, ERICH : *Ztsch. f. Immunitätsf. u. Experim. Therap.*, 75: 173, 1932. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 30: 16, 1933.
31. LANGWORTHY, VIRGINIA & MOORE, ANNA : *Journal of Infectious Diseases*, 41: 70, 1927.

32. LARSON, CARL L. : *Public Health Reports*, 56: 1593, 1941.
33. LARSON, CARL L. : *Public Health Reports*, 56: 1650, 1941.
34. LEGER, ANDRÉ ET CERTAIN : *Bull. Soc. Path. Exot.*, 11: 19, 1918. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 12: 222, 1918.
35. LÉPINE, P.; CAMINOPETROS, J. & PAGONIS, A. : *C. R. Société de Biologie*, 109: 613, 1932.
36. LHÉRITIER, A. : *Bull. Soc. Path. Exot.*, 11: 357, 1918. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 12: 225, 1918.
37. MARCHESE, FRANCO : *Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 213, 1935. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 33: 61, 1936.
38. MARTIN, LOUIS & PETTIT, AUGUSTE : *C. R. Société de Biologie*, 69: 10, 1917.
39. MARTIN, LOUIS & PETTIT, AUGUSTE : *C. R. Société de Biologie*, 69: 574, 1917.
40. MARTIN, LOUIS; PETTIT, AUGUSTE & VAUDREMER, ALBERT : *C. R. Société de Biologie*, 69: 949, 1917.
41. MARTIN, LOUIS & PETTIT, AUGUSTE : *C. R. Société de Biologie*, 81: 697, 1918.
42. MEYER, K. F.; B. EDDIE & B. ANDERSON-STEWART : *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 38: 17, 1938.
43. MEYER, K. F.; B. STEWART-ANDERSON & B. EDDIE : *American Journal of Public Health*, 29: 347, 1939.
44. MEYER, K. F.; B. STEWART-ANDERSON & B. EDDIE : *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 95: 710, 1939.
45. MIDDLETON, A. D. : *Journal of Hygiene*, 29: 219, 1929.
46. M'NEE, J. W. : *Journal of Pathology and Bacteriology*, 23: 342, 1919.
47. MOCHTAR, A. : *Geneesk. Tijdschr. v. Nederl-Indië*, 73: 1182, 1933. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 31: 93, 1934.
48. MOLNER, J. G. & MEYER, K. F. : *American Journal of Public Health*, 30: 509, 1940.
49. NICOLLE, CH. & BLANC, G. : *C. R. Société de Biologie*, 69: 445, 1917.
50. NICOLLE, CH. & LEBAILLY, CH. : *C. R. Société de Biologie*, 81: 349, 1918.
51. NICOLLE, CH. & LEBAILLY, CH. : *C. R. Société de Biologie*, 81: 469, 1918.
52. NOGUCHI, HIDEYO : *Journal of Experimental Medicine*, 25: 755, 1917. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 11: 204, 1918.

53. NOGUCHI, HIDEYO : *Journal of Experimental Medicine*, 27: 575, 1918. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 12: 225, 1918.
54. NOGUCHI, HIDEYO : *Journal of Experimental Medicine*, 27: 609, 1918. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 12: 225, 1918.
55. NOGUCHI, HIDEYO & KLIGLER, I. J. : *Journal of Experimental Medicine*, 33: 239, 1921.
56. ORTIZ G. IGNACIO : *Boletín del Laboratorio de la Clínica "Luis Razetti"*, 14: 324, 1945.
57. OTTERAAEN, ANDREW : *Journal of Infectious Diseases*, 24: 489, 1919.
58. PACKCHANIAN, ARDZROODY : *American Journal of Pathology*, 14: 638, 1938.
59. PAWAN, J. L. : *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, 25: 31, 1931. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 28: 739, 1931.
60. PETZETAKIS, M. : *Bull. Soc. Path. Exot.*, 25: 411, 1932. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 30: 15, 1933.
61. RAVEN, CLARA & BARNES KATHARYNE : *Journal of Bacteriology*, 40: 329, 1940.
62. RIBEYRO, RAMÓN : *Crónica Médica*: 157, 1918.
63. RIDLON, J. R. : *Public Health Reports*, 46: 1, 1931. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 28: 315, 1931.
64. ROBINSON, G. H. : *American Journal of Hygiene*, 4: 327, 1924.
65. ROGGERO CASAS, PEDRO : Tesis para optar el grado de Bachiller en Medicina, 1941.
66. ROLLESTON, HUMPHRY : *London: H. M. S. O.*, 1936. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 34: 357, 1937.
67. SANDIFORD, B. R. : *Journal Egyptian Medical Association*, 19: 687, 1936. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 34: 709, 1937.
- 67a. SAVINO, ENRIQUE & ANCHEZAR, B. : *Revista del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 11: 135, 1942.
- 67b. SAVINO, ENRIQUE & RENNELLA, E. : *Revista del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 12: 182, 1944.
- 67c. SAVINO, ENRIQUE & RENNELLA, E. : *Revista del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 12: 262, 1944.
- 67d. SAVINO, ENRIQUE & RENNELLA, E. : *Revista del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán"*, 12: 293, 1944.
- 67e. SAVINO, ENRIQUE & RENNELLA, E. : *Archivos de la Secretaría de Salud Pública de la Nación*, 1: 59, 1946.
68. SCHÜFFNER, W. A. P. : *Nederl. Tijdsch. v. Geneesk.*, 73: 4707, 1929. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 27: 118, 1930.

69. SCHÜFFNER, W. A. P. : *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 28: 7, 1934.
70. SELLARDS, A. W. : *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 33: 545, 1940.
71. SLOT, G. A. & VAN DER WALLE, N. : *Geneesk. Tijdschr. v. Nederl-Indië*, 72: 1579, 1932. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 30: 369, 1933.
72. SMITH, J. & DAVIDSON, L. S. P. : *Journal of Hygiene*, 36: 438, 1936.
73. SMITH, J. : *Journal of Hygiene*, 38: 521, 1938.
74. SOUCHARD : *Bull. Soc. Med. Chirurg. Indochine*, 11: 11, 1933. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 30: 724, 1933.
75. STEVENSON, A. C. : *American Journal of Tropical Medicine*, 2: 77, 1922.
76. SYVERTON, J. T.; STILES, W. W. & BERRY, G. P. : *Journal of Bacteriology*, 36: 279, 1938.
77. TIFFANY ELBERTON, J. & MARTORANA, NANCY F. : *American Journal of Hygiene*, 36: 195, 1942.
78. TROISIER, JEAN; LERN-KINDBERG & MONNEROT-DERMAINE, M. : *Bull. et Mém. Soc. Med. Hôpit de Paris*, 45: 1161, 1929. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 27: 119, 1930.
79. UHLENHUTH, P. : *Muench. Med. Woch.*, 77: 2047, 1930. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 28: 308, 1931.
80. UHLENHUTH, P. & ZIMMERMANN, E. : *Deut. Med. Woch.*, 59: 1393, 1933. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, 31: 94, 1934.
81. WALCH, E. W. & WALCH-SORGDRAGER, G. B. : *American Journal of Hygiene*, 7: 393, 1927.
82. WARD THOMAS, G. & TURNER THOMAS, B. : *American Journal of Hygiene*, 35: 122, 1942.