

EPIDEMIOLOGIA DE LA FIEBRE AMARILLA SELVÁTICA EN COLOMBIA DURANTE LOS ÚLTIMOS AÑOS (*)

Por los doctores: *Jorge Boshell Manrique, John C. Bugher, Manuel Roca García, Ernesto Osorno Mesa.*

La primera manifestación de Fiebre Amarilla Selvática en los Llanos Orientales de Colombia se registró en agosto de 1934 en forma de un brote epidémico en la vecindad de la población de Restrepo, y se prolongó hasta febrero de 1935 (1). En la segunda mitad del mismo año la enfermedad apareció en los alrededores de Villavicencio y Acacías; en los últimos meses de 1936 se registraron casos en las tres regiones. Nuevas manifestaciones se presentaron en 1937 en el curso inferior de los ríos correspondientes a tales regiones, seguidas por un silencio que se prolongó hasta 1940, año en que principió el brote actual.

No hubo explicación satisfactoria respecto al origen del brote de 1934. Era evidente que la infección atacaba de preferencia a los peones que trabajaban en el bosque. En ningún sitio de toda esa región, a pesar de larga y cuidadosa búsqueda, fue posible encontrar larvas o adultos de *Aedes aegypti*.

Estos factores determinaron la institución de un laboratorio en Villavicencio. Las indagaciones se iniciaron en 1938. Habían sido precedidas de trabajos preliminares tendientes a orientar el estudio en la región de Restrepo, desde noviembre de 1934. Durante ese período preliminar se demostró la presencia de anticuerpos en la circulación de la mayor parte de los simios, estableciéndose el hecho de que esos animales tienen algo que ver en la epidemiología de la Fiebre Amarilla Selvática, pero sin poder afirmar el papel exclusivo de dicha fauna, puesto que la misma enfermedad existe en otras regiones prácticamente desprovista de simios.

Durante el primer año el laboratorio de Villavicencio se ocupó

(*) Los estudios y observaciones en que se basa este informe se llevaron a cabo bajo los auspicios de la Sección de Estudios Especiales del Ministerio de Trabajo, Higiene y Previsión Social de Colombia, en cooperación con la División Sanitaria Internacional de la Fundación Rockefeller.

Un informe más detallado fue publicado en inglés, en el "American Journal of Hygiene. Vol. 39. N^o 1. Enero, 1944.

principalmente en establecer nuevas técnicas o adaptar antiguas. Algunos de esos trabajos han sido publicados (2), (3), (4). Gran parte del tiempo se dedicó al trabajo experimental y a observaciones de campo para determinar con mayor precisión las líneas de ataque más favorables para resolver el problema.

El programa de la investigación se dividió en dos partes:

A).—*Comportamiento del virus de Fiebre Amarilla en los metazoarios vertebrados:*

La incógnita que se trataba de resolver era la siguiente: ¿Qué animales son capaces de multiplicar el virus después de la administración de una pequeña dosis, y de hacerlo accesible a un vector hematófago, y cómo se comporta ese virus en relación con el posible vector? En realidad esto significa el estudio del virus en la sangre periférica puesto que la investigación preliminar en *Macacus rhesus*, en ratones y en el hombre ha demostrado que el virus no está presente en las secreciones o excreciones.

Grupos de animales silvestres fueron sangrados antes del experimento para la búsqueda de anticuerpos y luego inoculados con cantidades de virus comparables a las que puede inocular un *Aedes aegypti* (5). Luego fueron sangrados con intervalos de uno o dos días y el suero se inoculó por vía intracerebral a ratón blanco (6) para demostración de virus circulante. A medida que se obtenían resultados positivos, los experimentos eran repetidos más minuciosamente, con titulaciones de suero para determinar las cantidades de virus. Al fin del mes los animales eran sangrados de nuevo y la prueba de protección para indagación de anticuerpos efectuada en los sueros pre- y post-experimentales.

Los resultados de este estudio fueron los siguientes: La susceptibilidad de los simios, ya encontrada en el Brasil (6), fue confirmada; además fue demostrada la susceptibilidad de todo el orden de marsupiales aunque en grado distinto (7). Sueros de animales que habían sido tomados durante el brote epidémico anterior, demostraron claramente el paso de la epizootia al través de las poblaciones de simios y de marsupiales, coincidiendo las zonas de más intensa infección humana con las de mayor inmunidad entre animales de esos dos grupos.

Especies animales pertenecientes a otros órdenes demostraron también alguna susceptibilidad pero no se pudo encontrar evidencia de que alguna de ellas tuviera papel predominante en la diseminación del virus en la naturaleza. Las principales especies estudiadas fueron: suideos (*Tayassu* y *Pecari*), agutis (*Dasyprocta variegata*), kinkajou (*Potus flavus*), lapa (*Cuniculus paca*), capybara (*Hydrochoerus capybara*), armadillo (*Dasypus novemcinctus*),

desdentados (*Tamandua tetradactyla*). (*Myrmecophaga Juvata*) *Cyclopes didactylus*), más un cierto número de ratones y ratas silvestres que demostraron una baja susceptibilidad. Se encontraron algunas veces pruebas de protección positivas entre esos animales, pero nunca en número suficiente para sugerir un papel importante en la epidemiología de la enfermedad.

Estudios semejantes efectuados en animales de sangre fría y en aves dieron siempre resultados totalmente negativos.

El resultado destacado de este trabajo fue el de demostrar que no existe un "albergue animal" propiamente dicho. Todos los animales que tienen la facultad de multiplicar virus también poseen la de desarrollar anticuerpos específicos, los cuales son factores de desaparición del virus e inhabilitan el animal para ser infectado ulteriormente.

B).—*Investigación de artrópodos:*

Los estudios de laboratorio que se hicieron para indagar la facultad de conservar el virus que puedan tener los artrópodos vinieron a demostrar que las condiciones de laboratorio no pueden compararse con las que existen en el bosque, y que conclusiones sacadas de esos experimentos tienden a desorientarnos. Sin embargo, durante el período inter-epidémico de 1938 a 1940 se desarrollaron técnicas de investigación de campo con el objeto de tener todo listo para la época esperada de reaparición de la Fiebre Amarilla.

La certidumbre de que el virus puede multiplicarse solamente en presencia de células vivas, determinó el método de indagación, dirigiéndolo hacia el examen de toda forma de vida presente en un bosque con historia de infección. Esto, en la práctica, significaba la captura de todos los seres vivientes que se pudieran encontrar en el área. Estos eran clasificados y combinados en grupos y, después de trituración, dilución en solución salina con 10 por ciento de suero normal de mono y centrifugación, eran inoculados por vía intracerebral a ratón blanco y por vía subcutánea a *Macacus rhesus*.

Parte del plan de experimentación consistía, caso de encontrar algún resultado positivo, en una especie determinada, en intensificar la experimentación en esa especie.

Estudios de campo.

Estos serán presentados en su orden cronológico.

1) *La Macarena.*

El 11 de enero de 1940 fue traído a Villavicencio, procedente de San Juan de Arama un empleado de la Compañía Shell, con todos los síntomas de una fiebre amarilla en período de remisión. La



MAPA N° 1.—Localización en Colombia del Mapa N° 2.

infección había tenido lugar mientras trabajaba en la abertura de una trocha en un bosque situado al sur del río Güejar, región inexplorada y despoblada. Refirió que tanto él, como los trabajadores que lo acompañaban, habían sido continuamente molestados por los mosquitos durante el día.

Se tomaron medidas inmediatas para el rápido transporte del personal y equipo de laboratorio para esa zona, temiendo que durante el intervalo de tiempo comprendido entre la infección y la traída del enfermo, las condiciones de estación hubieran determinado cambios en los factores epidemiológicos por estudiar. El 12 de enero se iniciaron las capturas de artrópodos. Estos fueron divididos en los grupos siguientes:

1. Mosquitos.
2. Garrapatas.
3. Moscas, abejas, y otros insectos no comprendidos en los demás grupos.
4. Trombidiídeos y Simulídeos.
5. Hormigas y termitas.
6. Miscelánea de artrópodos venenosos.

Resultados.

De estas capturas no fue aislado ningún virus y ninguno de los monos inoculados se inmunizó. Digna de anotarse fue la rápida modificación de la fauna de insectos en el intervalo mencionado más arriba, que coincidió con el principio de la estación seca. Los mosquitos se habían hecho sumamente escasos, lo que no estaba de acuerdo con los datos suministrados por el enfermo.

a). *Mosquitos.*

En seis días fueron capturados solamente 89 que comprendían las siguientes especies:

- Sabethini* sp.
- Aedes leucocelaenus.*
- Culex* sp.
- Aedes serratus.*
- Haemagogus capricornii.*
- Sabethoides serratoria.*
- Sabethoides* sp.

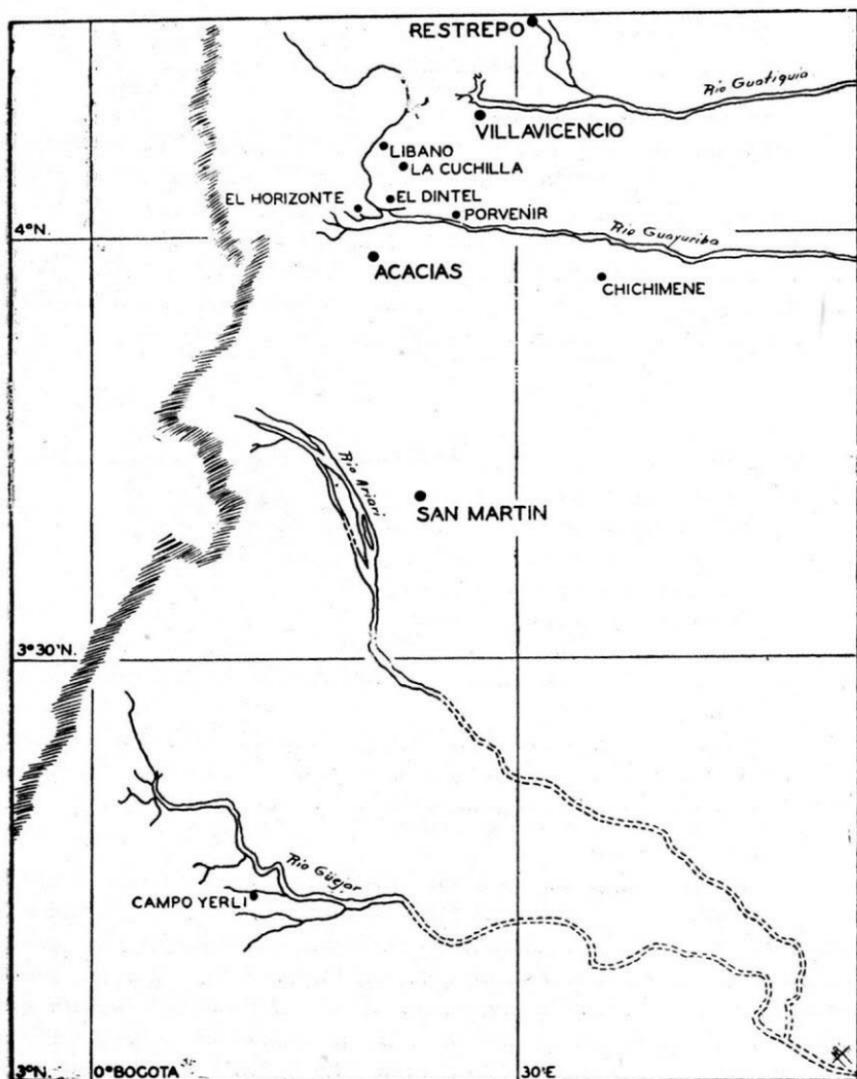
No se capturaron anofelinos ni mosquitos nocturnos.

b). *Garrapatas.*

Todas del género *Amblyomma.*

c). *Simulium.*

Se encontraron en grandes cantidades a orillas del caño vecino del campamento.



MAPA N° 2.—Región en donde se realizaron las investigaciones sobre la Fiebre Amarilla. La sombra de la izquierda representa las primeras estribaciones de la Cordillera Oriental de los Andes.

d). *Flebótomos.*

Escasos.

e). *Trombidiídeos.*

Se encontraron pero en cantidad insignificante.

f). *Observación de animales.*

Estas fueron relegadas a un segundo plano. No fue capturado ningún animal en trampa, ni se encontraron huellas de pequeños roedores o marsupiales. En cambio la fauna de suideos (*Tayassu* y *Pecarí*), tapiros, venados, simios, y aves era sumamente densa. Los simios pertenecían a los géneros *Cebus*, *Callicebus*, y *Ateles*. Doce de ellos fueron tirados y 10 sueros obtenidos; examinados posteriormente en el laboratorio demostraron ser todos positivos.

Conclusiones:

A pesar de no haber dado esta expedición ningún resultado positivo, se obtuvieron los siguientes datos:

1). Coincidencia de una epizootia reciente y severa entre los simios con una infección humana.

2). Ausencia o casi ausencia de trombidiídeos.

3). Cambio rápido de la fauna de mosquitos coincidiendo con el cambio de estación lo que precisó para el porvenir la necesidad de iniciar las investigaciones con un mínimo de demora después del primer caso.

4). Perfecta practicabilidad del programa de trabajos tal como se había concebido en el laboratorio y posibilidades de transporte de animales y equipo a grandes distancias.

2). *El Horizonte.*

La primera manifestación de fiebre amarilla silvestre después de La Macarena tuvo lugar en julio 30 de 1940. Una mujer con síntomas típicos de fiebre amarilla (confirmados luego por la autopsia y el examen anatómo-patológico del hígado) fue traída a Villavicencio. Los trabajos de campo se iniciaron inmediatamente. Las primeras indagaciones revelaron que un muchacho que trabajaba en la misma finca había muerto unos días antes y había sido enterrado en Acacias, sin practicarle la viscerotomía. Otro muchacho fue hallado típicamente enfermo en un rancho a poca distancia. El único habitante de esa zona que escapó a la infección fue el esposo de la enferma que había sido vacunado recientemente. Los tres enfermos, inútil es decirlo, habían rehusado someterse a la vacunación. La inoculación a ratón del suero del último paciente demostró la presencia de virus de fiebre amarilla y una prueba de protección posteriormente hecha resultó positiva. Las investigaciones

se iniciaron inmediatamente en una plantación de caña en donde estaban trabajando la mujer y los muchachos en los días en que se presentó la infección, y que se encontraba inmediatamente contigua al bosque. La primera captura fue hecha el 3 de agosto y se procedió a la trituración e inoculación de artrópodos divididos en grupos.

Los primeros resultados se anotaron el 15 de agosto, día en que un ratón de los que habían recibido por vía intracerebral el producto de la trituración del grupo *Aedes spp.* — *Haemagogus capricornii*, enfermó típicamente. Los pases subsiguientes y las pruebas de especificidad demostraron la identidad de virus amarillo.

El segundo resultado alcanzado fue más demostrativo y se obtuvo después de inoculación de un grupo de 27 *Haemagogus*. Un *Macacus rhesus* inoculado por vía subcutánea al mismo tiempo que los ratones, desarrolló franca inmunidad. Todas las demás inoculaciones de artrópodos recogidos en esa área fueron negativas.

El resultado orientó definitivamente la investigación hacia el *Haemagogus capricornii*.

Conviene señalar aquí el aislamiento de un nuevo virus neurotrópico de un grupo de mosquitos *Sabethini*. Este virus recibió el nombre de *Sabethini* I. Pruebas de especificidad y de inmunidad cruzada demostraron luego que este virus es distinto del de la fiebre amarilla.

Estudio de animales.

No fue posible demostrar la presencia de virus circulante en marsupiales capturados en la región de El Horizonte a pesar de haber procedido metódicamente a la inoculación de su suero a ratón en los primeros días de captura. En cambio se obtuvieron datos importantes con las pruebas de protección de esos animales. La especie más abundante era la de la chucha o fara común, *Didelphis marsupialis*. Ejemplares de esta especie dieron un alto porcentaje de pruebas de protección positivas. Además varios de esos animales demostraron, después de una primera prueba de protección negativa con el suero obtenido el día de captura un notable desarrollo de anticuerpos durante el primer mes de cautividad, fenómeno que parece indicar una infección reciente inmediatamente anterior a la captura o coincidente con ella.

La fauna de simios era muy escasa en esa región; sin embargo tres ejemplares de *Cebus fatuellus* fueron muertos, de los cuales dos demostraron tener una alta concentración de anticuerpos en el suero.

En resumen se puede estipular que:

1º) El *Haemagogus capricornii* fue probablemente el único vector en ese brote.

2º) No fue hallado virus en mosquitos de otra especie fuera del *Haemagogus capricornii*.

3º) Coincidió un brote epizootico entre los simios y los marsupiales de la región con las manifestaciones en el hombre.

4º) Esta investigación no estableció si los *Haemagogus* se habían infectado en los animales o en los casos humanos, los cuales se encontraban en la vecindad inmediata. Sin embargo, la cantidad relativamente considerable de virus que contenían, sugiere la probabilidad de que hubieran sido infectados algún tiempo antes del primer caso humano.

5º) El fenómeno de la aparición de *Haemagogus* en verdaderas olas, con días intermedios en que las capturas eran casi nulas, fue observado sin que se pudiera suministrar explicación satisfactoria. Un hecho que quedó en claro fue que la presencia de virus no está necesariamente relacionada con grandes cantidades de esos mosquitos. Es de observar también que las capturas fueron hechas solamente al nivel del suelo.

3) El Líbano y El Porvenir.

Mientras se realizaban los trabajos del Horizonte, se tuvo noticia de dos casos de fiebre amarilla contraídos en la parte alta del río Guamal. La selva de este río es la continuación de la de La Macarena. Estos casos parecían demostrar que el pequeño brote de Guamal era la continuación del de La Macarena, acaecido 8 meses antes. En una tentativa de interceptar el virus en su invasión hacia el Norte, se establecieron en sitios estratégicos indicados por la distribución de la selva, dos campamentos. El primero en la parte en que este mismo río atraviesa las últimas estribaciones de la Cordillera Oriental para llegar a la llanura y el segundo en las cabecezas del río Negrito, a 15 kilómetros de la cordillera. Estos campamentos fueron llamados "El Líbano" y "El Porvenir", respectivamente. Se hicieron capturas en semanas alternadas, con el mismo plan de experimentación ya descrito anteriormente. Además, fundándose en la información obtenida en El Horizonte se introdujo la práctica de hacer picar *Macacus rhesus* por *Haemagogus capricornii* con la esperanza de demostrar la facultad de ese mosquito de transmitir el virus por picadura, que sabíamos podía contener.

Los totales de mosquitos capturados fueron de 2.128 en El Líbano y 1.499 en El Porvenir, en los meses de octubre y noviembre. No fue hallado virus en esos mosquitos. Sin embargo, a pesar de ese resultado negativo se obtuvieron presunciones acerca del paso reciente de virus en El Líbano, en donde de 18 *Didelphis marsupialis* capturados, 5 dieron prueba de protección positiva y 2 desarrollaron anticuerpos durante el primer mes de cautividad. Dos *Cebus fatuellus* demostraron fuerte inmunidad. Los cuadros Nos. 3 y 4 resumen estos resultados.

CUADRO NUMERO 1

Captura de mosquitos en El Horizonte

1940 A G O S T O	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	Agot. a Nov. 27	Totales	
	Sabethini spp.	125	15	35	49	60	2	168	173	295	195	201	220	205	279	201	255	95	255	144	262	314	225	177	149	744	4,843
<i>H. Capricornii</i>	3	27	1	0	4	1	9	3	1	1	10	40	9	9	0	1	2	29	3	3	0	10	10	1	11	188	
Anophelinos	0	2	4	23	3	2	11	8	53	12	5	2	59	5	2	20	0	6	0	58	1	17	16	9	29	347	
<i>Dominicii</i> (grupo)	6	0	5	1	6	0	5	6	4	2	4	8	5	7	0	6	2	5	2	1	0	5	1	2	18	101	
Otros*	1	0	8	1	1	1	1	3	5	1	0	1	7	0	2	3	0	2	0	13	4	3	2	2	19	80	
Totales	135	44	53	74	74	74	6	194	193	358	211	220	271	285	300	205	285	99	297	149	337	319	260	206	163	821	5,559
Larvas de <i>Haemagogus</i>							51												15	33					72	171	
Larvas de otros							7												33	91				92	219	442	
Totales							58												48	124				92	291	613	

4). *La Cuchilla.*

En noviembre 18 de 1940 se presentaron varios casos en las cabeceras del río Ocoa, en la vertiente oriental del último contrafuerte de la cordillera. Un nuevo campamento fue establecido allí; se suspendieron las actividades en El Porvenir y se redujeron las de El Líbano a una semana en el mes.

En los días iniciales de la investigación de La Cuchilla se hizo una observación que debía cambiar enteramente la orientación respecto a las ideas existentes sobre el comportamiento del *Haemagogus capricornii*. La ausencia de mosquitos en el bosque adyacente a la rocería en donde evidentemente se habían infectado los casos indujo a uno de los investigadores a situarse junto a unos trabajadores ocupados en la tala de montaña con el objeto de capturar todo hematófago que lo atacara. Pronto fue constatado el hecho de que una verdadera nube de *H. capricornii* coincidía con la caída de

CUADRO NUMERO 2

Pruebas de protección de animales de El Horizonte

N O M B R E	PRIMERA SANGRIA			SEGUNDA SANGRIA			Desarrollaron anti-cuerpos después de la captura
	Neg.	Pos.	Total	Neg.	Pos.	Total	
<i>Didelphis marsupialis</i>	69	14	83	34	15	49	6
<i>Metachirus nudicaudatus</i>	28	1	29	4	1	5	0
<i>Cebus sp.</i>	1	2	3				
<i>Dasypus novemcinctus</i>	4	0	4	1	0	1	0
<i>Cabassous</i>	1	0	1				
Totales	103	17	120	39	16	55	6
	Primer mes			Segundo mes en adelante			
<i>Didelphis marsupialis</i>	28	8	36	35	12	47	

CUADRO NUMERO 3

Estudios de animales en el Líbano

E S P E C I E S	Total de capturas	Probados para Anticuerpos de Fiebre Amarilla				
		Positivo	Negativo	Total	No. Probados 2 Sangrias	Desarrollaron anti- cuerpos desues de la captura
<i>Didelphis marsupialis</i>	37	7	11	18	15	2
<i>Metachirus</i>	9	0	1	1	0	0
<i>Caluromys</i>	1	0	1	1	1	0
<i>Dasybus novemcinctus</i>	1	—	—	—	—	—
<i>Tayassu</i>	1	0	1	1	0	0
<i>Nasua sp.</i>	3	0	3	3	2	0
<i>Cebus sp.</i>	3	2	0	2	0	0
Totales	55	9	17	26	18	2

CUADRO NUMERO 4

Capturas de mosquitos

EL LIBANO		EL PORVENIR	
Octubre - Diciembre	No. Cap.	Octubre 5 - Noviembre 9	No. Cap.
<i>Sabethini</i>	613	<i>Sabethtni</i>	877
<i>Haemagogus</i> (*)	1.068	<i>Haemagogus</i>	97
Anophelinos	104	Anophelinos	11
<i>Dominicii</i> grupo	314	<i>Dominicii</i> grupo	10
Otros	29	Otros	504
Totales	2.128	Totales	1.499

(*) *Haemagogus* abundante en diciembre

CUADRO NUMERO 5

Capturas de mosquitos - La Cuchilla - Triturados e inoculados

M O S Q U I T O	1 9 4 0			1 9 4 1							Total
	Nov. 28-30	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.		
	68	2.851	1.056	460	500	1.033	1.034	737	939	8.678	
17	132	6	150	113	72	328	231	—	1.049		
—	370	10	25	89	—	20	—	—	514		
Totales	85	3.353	1.072	635	702	1.105	1.382	968	939	10.241	

DATOS DE AISLAMIENTO DE VIRUS

<i>Haemagogus</i>	30	9	17						
		19	24						
			31						

CUADRO NUMERO 6

“Haemagogus” - La Cuchilla - Experimentos de transmisión por picadura a monos “Rhesus”

	1 9 4 0		1 9 4 1							Total
	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	
	No. picaron	45	2.511	1.069	520	536	1.504	1.123	727	
No. <i>Rhesus</i> usados	1	5	4	2	3	2	1	1	1	20
Transmisión	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

NOTA: El número de *Haemagogus* que picaron a monos *Rhesus* excede en algunos meses al número de triturados para virus, porque parte de los capturados fue empleada en otros trabajos experimentales.

cada árbol, atacando con gran actividad a los trabajadores. De allí surgió la idea de que el lugar frecuentado por los *Haemagogus* estuviera, al menos en esa época, en el follaje de los árboles más bien que al nivel del suelo y de ese día en adelante las capturas se hicieron o bien tumbando árboles con hacha o subiendo a alturas de 10 a 20 metros. El número de mosquitos capturados aumentó inmediatamente en proporciones considerables, multiplicándose las probabilidades de aislamiento de virus. Además, vino esta comprobación a suministrar el eslabón que faltaba para explicar la persistencia del virus al través de estaciones y en regiones en donde aparentemente habían desaparecido los *Haemagogus*. Como se verá más adelante, pudo demostrarse la persistencia del virus al través de toda una estación seca en *Haemagogus* capturados en abundancia, en la copa de un árbol, a tiempo que las capturas al pie del mismo árbol eran prácticamente nulas. Otro resultado importante de este hallazgo es su concordancia con la distribución de la fiebre amarilla selvática entre animales arborícolas como lo son los simios y los marsupiales (*Didelphis*, *Metachirus*, *Philander*, *Caluromys* y *Marmosa*).

Las indagaciones de La Cuchilla se continuaron hasta julio. Sus resultados están resumidos en el cuadro N° 5. El virus fue aislado el 30 de noviembre, el 9 y 19 de diciembre en las vecindades del sitio presumido de infección humana. En enero, con el objeto de demostrar la presencia de virus fuera del contacto humano se estableció una estación de captura en un árbol situado en un valle perfectamente aislado de las zonas habitadas. De mosquitos capturados en ese árbol se aisló virus el 17, el 24, y el 31 de enero. Un colono, quien penetró al valle en los últimos días del mes con el fin de abrir una pequeña rocería se infectó y murió de fiebre ama-

CUADRO NUMERO 7

Pruebas de protección - La Cuchilla

NOMBRE	Pos.	Neg.	Total	Desarrollaron anticuerpos después de la captura
<i>Didelphis marsupialis</i>	15	40	55	4
<i>Metachirus</i> sp.	1	0	1	
Totales	16	40	56	4

rilla. La mayor parte de los mosquitos capturados picaron a *Macacus rhesus* pero no se obtuvo transmisión por este método.

Quedó establecido que en La Cuchilla no solamente el *Haemagogus* subsiste al través de la estación seca sino que el virus también persiste en esos mosquitos y, por consiguiente, que la estación seca no constituye una interrupción en la endemia silvestre como antes se creía.

El estudio de animales en La Cuchilla dio también resultados interesantes. No se encontraron simios a pesar de frecuentes cacerías. En cambio, el examen de sueros de marsupiales demostró claramente una epizootia coincidente con el brote humano, por las pruebas de protección comparativas. Las tentativas de aislamiento de virus circulante en esos animales no dieron resultado. El cuadro N^o 7 resume el resultado de las pruebas de protección.

5). *El Dintel.*

En este sitio, situado entre La Cuchilla y el río Guayuriba tuvo lugar un pequeño brote a mediados de diciembre de 1940. Se aisló virus por inoculación a ratón el 27 de diciembre de un grupo de 98 *H. capricornii*. Trituraciones de control hechas aquí, como en todos los sitios de investigación, con centenares de mosquitos de otras especies y de otros artrópodos fueron absolutamente negativas.

6). *Chichimene.*

La repetida evidencia de la presencia del virus de la fiebre amarilla en *H. capricornii* tuvo por consecuencia lógica que se redoblaron los esfuerzos para determinar su papel eventual de transmisor. La oportunidad para una indagación con firmes bases de epidemiología humana se presentó a fines de junio de 1941 en la selva situada entre caño de Chichimene y el río Guayuriba, sobre la trayectoria prevista de extensión del virus. Los resultados de Chichimene pueden sintetizarse así: Se aisló virus de fiebre amarilla en junio 28, julio 21, julio 22, julio 24, de varios grupos de *H. capricornii*, sea por inoculación a ratón del triturado de mosquitos, sea por inoculación a *rhesus*.

El grupo de *Haemagogus* de julio 5 realizó la primera transmisión por picadura a *rhesus* obtenida en Colombia, determinando la infección y la muerte del animal. Otro grupo de *Haemagogus* correspondiente a julio 24 produjo fuerte inmunidad por picadura a *rhesus*; se puede considerar esto como un segundo éxito de transmisión.

Un vector accesorio fue encontrado en Chichimene, la especie *Aedes leucoclaenus*. Un pequeño grupo de 6 de estos mosquitos capturados el 11 de julio contenían virus. No se obtuvo transmisión por picadura.

En cuanto al estudio de posible reserva animal vino a confir-

CUADRO NUMERO 8

Estudios de transmisión en Chichimene

E S P E C I E S	Número total de mosquitos		Aislamiento de virus - Monos picados				Observaciones
	Inoculados	Picaron	Fecha	No. de mosquitos	No.	Transmisión	
<i>Haemagogus capricornii</i>	2.005	2.194	Junio 28/41	4	A-2214	—	
			Julio 5/41	53	A-2233	+	Murió de fiebre amarilla
			Julio 22/41	60	A-2490	—	
			Julio 24/41	68	A-2497	+	Se inmunizó
<i>Aedes leucocelaenus</i>	45	39	Julio 11/41	6	A-2499	—	Ningún mono fue picado por mosquitos que contenían virus
Sabethini	370						
Otros culicinae	36						
Otros arthropodos	699						
Totales	3.155	2.233				2	

mar observaciones hechas anteriormente con relación a la distribución relativa de simios y marsupiales. Parece desprenderse de esas observaciones el hecho de que las regiones vírgenes como la de Chichimene tienen predominancia de simios contrastando con las zonas habitadas en donde los cultivos de plátano, maíz, yuca, así como los gallineros, ofrecen condiciones mejores para la pululación de marsupiales, los cuales pueden en ciertas regiones considerarse como semidomésticos. Estas condiciones se destacaban de modo especialmente claro en Chichimene, en donde la población de simios era excepcionalmente densa y la de marsupiales nula. Como el objeto más inmediato era la indagación que consistía en el estudio de transmisión, no se le dedicó mayor tiempo a la cacería. Sin embargo, 31 ejemplares de *Lagothrix*, *Cebus*, y *Saimiri* fueron muertos y sus sueros dieron 19 resultados positivos. En una cacería ocasional que se practicó 6 meses después, 5 sueros de 5 simios muertos, mostraron inmunidad, lo que parece indicar una epizootia que se estaba generalizando entre esos animales en la época de la primera investigación.

Resulta interesante la comparación de los resultados de La Cuchilla y Chichimene, sobre todo en lo que se refiere al comportamiento de los dos virus respectivos en animales de laboratorio y más especialmente en *Macacus rhesus*. Sin entrar en detalles bástenos anotar el hecho de que el virus aislado en Chichimene demuestra una afinidad mucho mayor por el *rhesus* que el de La Cuchilla siendo así que produjo la muerte de uno de ellos por picadura, determinó virus circulante e inmunización en varios otros, asemejándose en cierto grado a la cepa africana de virus Asibi. En cambio el virus de La Cuchilla, perteneciente a una "región de marsupiales" por oposición a la "región de simios" presenta una afinidad mucho menor. Estos hechos abren perspectivas de investigación halagadoras sobre modificaciones y adaptabilidades de un mismo virus por pases en animales de distinta familia.

Conviene sin embargo observar que el éxito de Chichimene respecto a transmisión no dependió solamente de ese factor. Debido a la densa población de simios de esa región existía sin duda una mayor proporción de mosquitos infectados en los grupos sometidos al experimento, lo que aumentaba enormemente las probabilidades de la presencia de un insecto con virus en estado de incubación favorable a la transmisión. El mayor número de insectos infectados se manifestó claramente por el período de incubación más corto observado en los ratones inoculados así como por el mayor número de ratones que cayeron.

El cuadro N° 10 muestra el resumen de capturas de mosquitos.

CUADRO NUMERO 9

Resultados de pruebas de protección con sueros de animales muertos o capturados en Chichimene. Villavicencio

E S P E C I E S	Pos.	Neg.	Total
<i>Ateles barthleti</i>	5	0	5
<i>Lagothrix lagotricha</i>	12	3	15
<i>Cebus fatuellus</i>	1	0	1
<i>Saimiri sciuraeus</i>	1	9	10
<i>Didelphis marsupialis</i>	0	1	1
<i>Cabassous hispidus</i>	0	1	1
Totales	19	14	33

CUADRO NUMERO 10

Resumen de capturas de mosquitos

L U G A R	<i>H. capricornii</i>	Otros	Aislamiento de virus
La Macarena	3	86	0
El Horizonte	188	5.371	2
El Líbano	0.68	1.060	0
El Porvenir	97	1.402	0
La Cuchilla	8.974	1.563	6
El Dintel	418	90	1
Chichimene	2.194	451	5
Totales	12.942	10.023	14
Gran total		22.965	

Conclusiones.

1º) Las indagaciones en regiones endémicas de fiebre amarilla en los llanos orientales de Colombia demostraron la presencia de fiebre amarilla 13 veces en *H. capricornii* y una en *A. leucocelaenus*. No fue hallado virus en ningún otro artrópodo.

2º) La posibilidad por parte del *H. capricornii* de transmitir el virus de la fiebre amarilla por picadura a *Macacus rhesus* fue demostrada dos veces.

3º) El *H. capricornii* es una especie esencialmente arborícola y puede mantenerse con virus a través de una estación seca, constituyendo un medio de tránsito del virus de una estación húmeda a la siguiente.

4º) La fiebre amarilla silvestre puede mantenerse latente entre poblaciones compuestas exclusivamente de simios o de marsupiales respectivamente, o de una mezcla de las dos familias.

5º) No hay evidencia de una reserva animal compuesta de mamíferos. El virus puede persistir durante toda la vida del mosquito de manera que éste constituye una reserva de por sí.

6º) La fiebre amarilla silvestre parece ser una enfermedad de los animales de la selva, con transmisión de animal a animal por mosquitos arborícolas. La parte animal del ciclo se reduce a los simios y a los marsupiales, ambos arbóreos. La multiplicación del virus y su presencia en la circulación periférica es transitoria y no persiste sino por unos pocos días. El desarrollo de anticuerpos elimina el animal como factor de persistencia de virus siendo precisa la renovación de la población para ofrecer la cantidad mínima de animales no inmunes indispensable para el estallido de un brote epizootico o epidémico. La infección no parece determinar en el animal ningún malestar incompatible con sus movimientos y sus migraciones habituales, o sea con la eventual diseminación de virus.

La transmisión del virus y su persistencia en una zona determinada está íntimamente ligada a la biología del *H. capricornii*. Este mosquito es esencialmente arbóreo y puede conservar el virus al través de una estación seca hasta la estación húmeda siguiente con el inicio de la cual coincide el ápice de la curva de densidad de mosquitos. Este es el momento también en que generalmente se han observado los primeros casos en los brotes humanos.

La relación que existe entre el virus de la fiebre amarilla, el *H. capricornii* y los mamíferos de las familias mencionadas le confiere un carácter puramente selvático. Sin embargo, el *Haemagogus* no es estrictamente un mosquito de la selva primitiva y se encuentra doquier se realizan condiciones de humedad y de sombra

favorables, como por ejemplo, en plantaciones de café, cacao, plataneras, etc.

Un brote epizootico requiere la coincidencia de varios factores; fuera de la presencia del virus debe existir una cierta densidad de mosquitos y un mínimo de individuos no inmunes. Cuando penetra el virus a una región desprovista de inmunidad es de esperarse caracteres explosivos con el resultado de, en un tiempo relativamente corto, casi todos los individuos se inmunizan y cesa el brote, tal parece haber sido el caso en La Macarena y en Chichimene. Bajo esas condiciones no es de esperarse la recurrencia del brote por varios años.

En cambio, en regiones en que el animal susceptible se multiplica intensamente, renovándose con rapidez la población de no inmunes, las manifestaciones pueden prolongarse indefinidamente: tal parece ser el caso en las regiones llamadas de "marsupiales", los cuales producen hasta dos camadas de 8 a 12 pequeños cada una anualmente. En regiones de esa clase, de no presentarse una estación seca excepcionalmente prolongada, susceptible de hacer bajar el índice de mosquitos más allá del minimum indispensable, el virus puede persistir por varias estaciones y las manifestaciones adquirir un verdadero carácter endémico.

El elemento humano es pues, accidental, en la trayectoria del virus de fiebre amarilla e interviene solamente cuando coinciden los trabajos en el bosque con el paso del virus. Sin embargo, cuando se tropieza con una población de cierta densidad, el *Haemagogus* puede desempeñar el papel de transmisor de hombre a hombre, presentándose lo que se ha llamado "fiebre amarilla rural". Tales condiciones se realizaron en las regiones de Restrepo y Acacias en 1934, 35 y 36 (1).

CONCLUSIONS

- 1.—The investigations carried out in regions where yellow fever is endemic, namely, the eastern plains of Colombia, showed the presence of yellow fever 13 times in *H. capricornii* and once in *A. leucocelaenus*. No virus was found in any other arthropod.
- 2.—The possibility of *H. capricornii* transmitting yellow fever virus to *Macacus rhesus* by bite, was demonstrated twice.
- 4.—Jungle yellow fever may remain latent among communities consisting exclusively of simians and marsupials or of a combination of these two families.
- 4.—Wild yellow (jungle) fever may remain latent among communities consisting exclusively of simians and marsupials or of a combination of these two families.
- 5.—There is no evidence of an animal reservoir in mammals. The virus

can continue active throughout the life of the mosquito so that the latter itself constitutes a reservoir.

6.—It seems that jungle yellow fever is a disease of forest animals transmissible from one to another by forest mosquitoes. The animal part of the cycle is limited to simians and marsupials, both of which live among trees. Reproduction of the virus and its presence in the peripheral circulation is transitory and lasts but a few days. The development of antibodies eliminates the animal as a factor of perpetuation of the virus so that renewal of the community is necessary in order to offer the minimum quantity of non-immune animals required for producing an epizootic or epidemic outbreak. Infection doesn't appear to entail in the animal any indisposition incompatible with its ordinary movements and migrations, that is to say, with the eventual dispersion of the virus. The transmission of the virus and its presence in any particular zone is closely bound up with the life history of *H. capricornii*. This mosquito is essentially arboreal and may retain the virus throughout a dry period until the next wet season, the beginning of which coincides with the zenith of mosquito density. Generally speaking, this is also the instant when first cases of human infection are observable. The relationship which exists between yellow fever virus, *H. capricornii* and mammals of the families mentioned above, gives to it a purely sylvan character. Nevertheless, *Haemagogus* is not strictly a mosquito of the virgin jungle and is to be found wherever there are favorable conditions of moisture and shade, for instance, in coffee or banana plantations.

An epizootic outbreak requires the coincidence of various factors. Besides the presence of the virus there must be a certain density of mosquitoes and a minimum of non-immune individuals. When the virus penetrates into a non-immune region violent outbreaks are to be expected, with the result that in quite a short time all individuals will be immunized and the epidemic will cease. Such seems to have been the case in La Macarena and Chichimene.

Under such conditions a fresh outbreak need not be expected for several years.

But in regions where the animal prone to infection procreates excessively thus renewing the non-immune hosts, the symptoms may last indefinitely: such seems to have been the case in the so-called "marsupial" regions, where there may be as many as two litters of 8 to 12 offspring to each mother in one year. In these regions, unless an exceptionally long dry season intervenes to reduce the mosquito index below the necessary minimum, the virus may persist for several seasons and the disease may acquire a real endemic character.

The human element is thus a mere incident in the transmission of the yellow fever virus and only intervenes when work in the woods coincides with the track of the virus. However, whenever the virus meets a community of particular density, the *Haemagogus* may act as a carrier from man to man thus causing what has been denominated "rural yellow fever". Such conditions appeared in the regions of Restrepo and Acacias in 1934, '35, and '36 (1).

Traducción de R. Muñoz.

Bibliografía.

- 1.—*Boshell-Manrique, Jorge.*—Informe sobre la Fiebre Amarilla Silvestre en la región del Meta, desde julio de 1934 hasta diciembre de 1936. *Revista de la Facultad de Medicina*, 7, 407-427, 1938.
- 2.—*Bugher, John C.*—A micromortar especially Adapted to Virus Studies in Insects. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 43, 422-424, 1940.
- 3.—*Bugher, John C.*—The Use of Baby Mice in Yellow Fever Studies. *Am. J. Trop. Med.*, 21, 299-307, 1941.
- 4.—*Davis, N. C.*—Attempts to Determine the Amount of Yellow Fever Virus Injected by the Bite of a single infected *Stegomyia* Mosquito. *Am. J. Trop. Med.* 14, 343-354, 1934.
Mice. Ann. Trop. Med. and Parasit., 24, 249-272, 1930.
- 5.—*Davis, Nelson C.*—Susceptibility of Capuchin (*Cebus*) Monkeys to Yellow Fever Virus. *Am. J. Hyg.*, 11, 321-334, 1930.
- 6.—*Davis, Nelson C.*—The susceptibility of marmosets to Yellow
- 7.—*Theiler, M.*—Studies on the Action of Yellow Fever Virus in Fever Virus. *J. Exper. Med.*, 52, 405-415, 1930.