

INMUNIZACION DEL HOMBRE CONTRA TIFO EPIDEMICO POR INFECCION CON RICKETTSIA PROWAZEKI AVIRULENTA (CEPA E)

BREVE ANÁLISIS CON OBSERVACIONES DURANTE UN PERÍODO DE TRES AÑOS Y MEDIO EN CUANTO A LA OCURRENCIA DE TIFO ENTRE INDIVIDUOS VACUNADOS Y POBLACIONES DE CONTROL EN LA ZONA SUR DE LOS ANDES PERUANOS (DISTRITO DE ILAVE, DEPARTAMENTO DE PUNO)*

JOHN P. FOX,^a JUAN A. MONTOYA,^b MARTHA E. JORDAN,^a J. R. CORNEJO UBILLUS,^c JAVIER LLOSA GARCIA,^d MIGUEL ARCE ESTRADA,^e HENRY M. GELFAND^a y LILLY HERRERA^e

De la División de Epidemiología, Departamento de Medicina Tropical y Salud Pública, Escuela de Medicina, Universidad de Tulane, Nueva Orleans, Luisiana, Estados Unidos; Unidad de Control del Tifo, Departamento de Epidemiología de la D.E.T.E., Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social del Perú; y Oficina de Zona (IV), Oficina Sanitaria Panamericana, Lima, Perú

Clavero y Pérez Gallardo (1, 2) han descrito el aislamiento de una cepa de *R. prowazeki* que cambió de características, en forma repentina e importante, tras una breve serie de pases por la membrana vitelina del embrión de pollo. Notificaron además la atenuación de la virulencia de esta cepa (designada como cepa E, por ser ésta la letra inicial de España) en animales de laboratorio, así como en los resultados de pruebas preliminares en seres humanos. Pérez Gallardo y Fox (3) confirmaron y

ampliaron las observaciones realizadas en animales, durante 1946-47. En 1951 se inició en Nueva Orleans un esfuerzo sistemático y continuo a fin de evaluar la cepa E como agente vivo para la inmunización del hombre, mediante un ensayo en pequeña escala llevado a cabo con voluntarios. Estas actividades se extendieron a Estados Unidos en forma de minuciosas observaciones que, por un período de más de cinco años, giraron en torno al desarrollo y persistencia de anticuerpos, y a la duración de la resistencia frente al ataque virulento. En 1953 se iniciaron en Perú estudios de campo que, al principio, se cifieron sobre todo a la relación de la respuesta de anticuerpos con la dosis y la vía de inoculación, y a confirmar la inocuidad primaria de la vacuna de cepa E para el ser humano. Simultáneamente, se llevaron a cabo programas de inoculación en mayor escala, que sirvieran de base a la observación a largo plazo (1954-1958) de la eficacia de la vacuna para evitar la aparición natural de tifo en una población de indios andinos, sumamente infestada de piojos, que vive a orillas del Lago Titicaca.

Si bien el tema general de la inmunización contra el tifo epidémico ha sido estudiado en otro lugar durante los últimos años (4), en la presente ocasión parece indicado recordar que el primer intento importante de lograr la inmunización artificial del ser

* Este trabajo pudo hacerse gracias al apoyo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social del Perú y a subvenciones del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas, que administran la División de Investigación de Subvenciones, Servicio de Salud Pública de Estados Unidos (E150, E1906) y la Organización Panamericana de la Salud. Una versión en inglés de este trabajo se publica en los *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*.

^a Escuela de Medicina, Universidad de Tulane, Nueva Orleans, Luisiana, Estados Unidos.

^b Consultor permanente, Programa de Control del Tifo en Perú y Bolivia (*AMRO 83*) Oficina de Zona (IV), Oficina Sanitaria Panamericana, Lima, Perú. Dirección actual: Ministerio de Salud Pública, San José, Costa Rica.

^c Departamento de Epidemiología de la D.E.T., Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Lima, Perú.

^d Servicio Sanitario Departamental, Arequipa, Perú.

^e Laboratorio Regional, Servicio Sanitario Departamental, Arequipa, Perú.

humano contra el tifo epidémico fue dado a conocer en 1916 por Charles Nicolle (5), y que ese primer esfuerzo se basó en el concepto de inmunidad resultante de la infección subclínica que el autor esperaba producir inoculando sangre diluida procedente de enfermos de tifo. Así pues, es particularmente apropiado, en conmemoración de Nicolle, informar aquí sobre el estado actual de una cepa viva, pero modificada, de *R. prowazeki*, como agente provisional de inmunización humana. A este respecto se analizarán brevemente los importantes hallazgos notificados ya (3, 6-12) y se presentarán al detalle los resultados de los ensayos de campo hechos en el Perú.

ANÁLISIS DE OBSERVACIONES ANTERIORES

En primer lugar, debe reconocerse el gran mérito de los investigadores españoles Clavero y Pérez-Gallardo, a cuya vigilante perspicacia se debieron la pronta identificación de un cambio importante de las características de una de las diversas cepas de *R. prowazeki*, que se mantuvo en pases por la membrana vitelina del embrión de pollo, y el descubrimiento e inicial exploración de la posible utilidad de la cepa E para la inmunización humana (1, 2). Los posteriores trabajos de Pérez-Gallardo y Fox (3), realizados en Nueva York, sirvieron de confirmación y ampliación de las observaciones hechas anteriormente en España sobre el comportamiento de la cepa E en animales. Fueron puntos de especial interés el establecimiento de la identidad antigénica de la cepa E con cepas no modificadas de *R. prowazeki*, la completa incapacidad de la cepa E para infectar cobayos, como importante punto de diferenciación, y la demostración de la relativa estabilidad del carácter avirulento de la cepa E durante el pase por ratas algoneras (*Sigmodon hispidus*) y piojos del cuerpo. Para subrayar la naturaleza fortuita del cambio resultante en la cepa E, debe mencionarse que varios pases paralelos en la membrana vitelina de la cepa madre Madrid 1 no produjeron un cambio similar (Pérez-Gallardo y Fox, datos inéditos).

Primeras observaciones de la infección humana con cepa E, hechas en España y Estados Unidos

La deliberada infección del hombre con cepa E, se intentó por primera vez en España (2) con el principal propósito de averiguar los efectos clínicos y la respuesta de anticuerpos. En un primer ensayo, se administró a 15 personas material fresco de saco vitelino en dilución al 1:100 ó 1:1000. Con excepción de un voluntario, que manifestó síntomas griposos febriles y signos de infección respiratoria desde el noveno al décimoquinto días después de la inoculación, no se observaron reacciones importantes. En un segundo ensayo, se administró material desecado de saco vitelino, en dilución de 1 por 20, a 2.217 personas, de las cuales 100 fueron observadas de cerca. En este grupo las únicas reacciones consistieron en casos raros de fiebre a los 2 ó 3 días de la inyección. Por desgracia, no se comprobó la viabilidad de las rickettsias en la vacuna y, a juzgar por lo que actualmente se sabe de la pérdida de infectividad durante los procesos de liofilización corrientes en aquel entonces, parece probable que pocos individuos de dicho grupo recibieran una dosis infectiva humana. Sea como fuere, de 230 sueros recogidos a los 15 días de la vacunación, del 50 al 60 % resultaron negativos con relación a la prueba Weil-Félix.

En 1951 se iniciaron en Estados Unidos esfuerzos sistemáticos para evaluar la cepa E con respecto a la inmunización de seres humanos. En todas las ocasiones se utilizó vacuna liofilizada de infectividad conocida. Reducidos ensayos preliminares verificados en Nueva Orleans (6) comprendieron a 29 voluntarios y establecieron cierto número de puntos importantes: 1) para infectar al hombre se necesitan de 4 a 4,5 log. dosis de inmunidad en huevo (D.I.H.); 2) con dosis mayores, se produjeron, en ocasiones, tanto las reacciones inmediatas como las retardadas; 3) la multiplicación de la cepa E es probable que se verifique en el hombre, pero, según indica la relación directa entre la

dosis infectante y el nivel de respuesta de anticuerpos, es de alcance limitado, y 4) no se pudo demostrar rickettsemia en las personas infectadas, ni por inoculación directa de sangre en sacos vitelinos con embrión, ni permitiendo a los piojos del cuerpo que se alimentaran a intervalos frecuentes durante los primeros 10 días posteriores a la inoculación.

En enero de 1952 se inició un ensayo de mayores proporciones en la Penitenciaría del Estado de Mississippi (Parchman), que comprendió a 175 reclusos que se ofrecieron voluntariamente, de los cuales 23 recibieron placebo y 27 una serie de 2 dosis de vacuna de tipo Cox (7, 8, 11). Varios años después, otros grupos de reclusos, en este caso de la Penitenciaría del Estado de Luisiana (Angola), recibieron voluntariamente vacuna de cepa E o un curso primario de vacuna de tipo Cox, seguido de una dosis reactivadora administrada pasados 9 meses aproximadamente (12). Dado que la experiencia llevada a cabo en Perú, a la que nos referiremos en breve, proporciona una base más amplia para describir las reacciones observadas a partir de la vacunación con cepa E, omitiremos el comentario de las reacciones en los grupos antedichos; nos limitaremos a decir que no ocurrieron reacciones alarmantes.

La respuesta inicial de anticuerpos, tanto de fijación del complemento (FC) como neutralizantes, se estudió con mucho cuidado en el grupo Parchman, en el que se emplearon dosis de 4 a 7 log. D.I.H. Los hallazgos más importantes fueron: 1) los títulos de anticuerpos fueron más altos después de administrar dosis de 6 a 7 log., que tras la administración de dosis de 4 a 5 log.; 2) con dosis comparables, las vías intradérmica e intramuscular produjeron mejor respuesta que la vía subcutánea; 3) en un pequeño grupo de 12 voluntarios, la escarificación (método de presión múltiple) produjo respuesta en todos ellos; 4) de 125 voluntarios inoculados con la cepa E, los 4 únicos casos en que no hubo respuesta ocurrieron en grupos a los que se habían administrado dosis subcutáneas de 4 ó 5 log., y 5) de 27

individuos, tan sólo 12 respondieron de modo perceptible al curso de 2 dosis de vacuna comercial del tipo Cox. Puede mencionarse (datos inéditos) que en 1955 y 1956 se exploraron en Angola los puntos terminales de inmunización de las vacunas de cepa E (3 lotes diferentes), en un grupo de unos 80 voluntarios, con resultados del orden de <3,2 a 3,8 log. D.I.H. como dosis inmunizantes mínimas.

Como en Estados Unidos no existe tifo epidémico, los voluntarios estadounidenses ofrecían especial interés desde el punto de vista de la duración de la inmunidad. Esto se estudió serológicamente y, en pequeños grupos de voluntarios reclutados a intervalos apropiados, mediante la prueba con *R. prowazeki* virulenta. En una ocasión se investigó la inmunización cruzada contra el tifo murino por medio de la prueba con *R. mooseri*, y en varios casos, y con fines comparativos, se comprobó también la resistencia a la *R. prowazeki* virulenta de personas inmunizadas con vacuna de tipo Cox.

Los datos sobre persistencia de anticuerpos se resumen en el cuadro No. 1 e indican que, aproximadamente a los 12 meses de la vacunación, se alcanzaron los niveles estables de anticuerpos de fijación del complemento (FC) y neutralizantes (AN), siendo los primeros todavía demostrables tan sólo en el 25% de los sueros y encontrándose los últimos casi uniformemente presentes durante la totalidad de los 66 meses del período de observación.

Los datos correspondientes a las pruebas se indican en el cuadro No. 2. En las series principales, realizadas en Parchman o, a los 66 meses de intervalo, en Nueva Orleans, 60 voluntarios recibieron dosis intradérmicas de *R. prowazeki* virulenta. De 18 controles no inmunes, de los cuales por lo menos 2 se incluyeron en cada experimento de prueba, todos menos 1 contrajeron enfermedades características que exigieron tratamiento específico (aureomicina o acromicina), el cual se inició al tercer día de enfermedad. De 6 inmunizados únicamente con la serie pri-

CUADRO No. 1.—*Persistencia de anticuerpos de fijación del complemento y neutralizantes después de la inmunización con vacuna de cepa E.*

Intervalo después de la inoculación (meses)	Número de sueros con títulos de anticuerpos de 1:x por												
	Anticuerpos FC*						Anticuerpos neutralizantes						
	Total comprobado**	<2	2-4	8-16	32	64+	Total comprobado**	0	1-2	3-5	6-11	12-23	24+
2	114	21	8	36	28	21	28				6	7	15
6	108	11	13	53	16	15	27	1	3		12	6	5
12	83	64	4	13	1	1	44	1	1	8	17	10	7
24	44	26	13	2	3		40	1	6	13	6	7	7
36	25	18	6	1			24		1	3	12	5	3
48	22	18	4				22		2	2	8	9	1
60-66	13	8	2	3			13	1		1	3	8	

* Títulos medidos con 2 unidades de antígeno.

** Debido a que unos cuantos voluntarios se prestaron de modo intermitente a las sangrías, a que otros pocos fueron descartados y luego readmitidos, y a que el grupo de 60 a 66 meses comprende tres voluntarios de Nueva Orleans, los sujetos observados difieren ligeramente de intervalo a intervalo, más allá de las diferencias debidas a simple substracción.

CUADRO No. 2.—*Resumen de resultados de la prueba con R. prowazeki o R. mooseri virulentas, de controles no inmunes y de voluntarios previamente inmunizados con cepa E o vacuna de tipo Cox.*

Prueba		Inmunización			Número sometido a prueba	Resultados de la prueba (Número de pacientes)		
Lugar	Cepa	Método	Intervalo (meses)	Sin fiebre		Con fiebre abortiva*	Con enfermedad tratada**	
Mississippi Nueva Orleans	<i>R. prowazeki</i> (Breinl)	Ninguno	—	18	0	1	17	
		Primovacuna Cox	9-21	6	1	2	3	
		Cepa E	2-66	36	32	2	2†	
Penitenciaría de Louisiana	<i>R. prowazeki</i> (Breinl)	Ninguno	—	4	0	1	3	
		Reactivadora Cox	23	7	6	0	1	
		Cepa E	23	6	5	1	0	
	<i>R. mooseri</i> (Florida 2)	Ninguno	—	3	0	0	3	
		Reactivadora Cox	23	1	0	0	1	
		Cepa E	23	7	2	2	3	

* 1 ó 2 días de fiebre baja, que cedió sin tratamiento.

** Enfermedad febril característica tratada con antibióticos después de 48 horas.

† Representa 2 voluntarios que no lograron desarrollar ningún anticuerpo después de la vacunación.

maria de la vacuna de tipo Cox (todos ellos procedentes del grupo de 12 que habían manifestado respuesta serológica), sólo uno se libró de fiebre y 3 necesitaron tratamiento. En cambio, de 36 vacunados con la cepa E, 32 se libraron por completo de respuesta febril, y sólo 2 (ambos procedentes de los 4 que originalmente no mostraron reacción serológica) requirieron tratamiento. Sin

embargo, el cuadro no evidencia que, en muchos de los sujetos pertenecientes al grupo tratado con cepa E que se libraron de enfermedad, el pequeño inóculo de prueba provocó una importante respuesta de anticuerpos, lo cual sugiere la posibilidad de que se provocara, cuando menos, una infección limitada.

En la prueba de Angola, cuyos datos

también aparecen en el cuadro No. 2, el principal interés radicaba en comparar la inmunidad contra la *R. prowazeki* provocada por la cepa E, con la resultante de la inmunización conseguida con la primovacuna y la dosis reactivadora de vacunas del tipo Cox; la prueba de ambos grupos se efectuó casi 2 años después de la última inoculación de vacuna. Interesa observar que, con excepción de un vacunado que necesitó tratamiento, hubo pocas diferencias entre los 7 sujetos del grupo que recibió vacuna del tipo Cox. La prueba con *R. mooseri* comprendió a 3 sujetos no inmunes e, inadvertidamente, 1 vacunado con vacuna del tipo Cox, todos los cuales necesitaron tratamiento. De los 7 sujetos inmunizados con la cepa E, 2 se libraron por completo y 3 enfermaron lo bastante para necesitar tratamiento. En este grupo, la resistencia guardó bastante correlación con los títulos de AN anteriores a la prueba. Teniendo en cuenta que la dosis de prueba (alrededor de 4 log. D.I.H.) fue lo bastante grande para que, transcurridos a lo sumo 5 ó 6 días, causara enfermedad en los controles no inmunes, parece que, contra las pequeñas dosis de *R. mooseri* resultantes de la exposición natural, la inmunidad conseguida con la cepa E es mucho más eficaz.

Primeras observaciones del uso sobre el terreno de la cepa E en Perú

En otoño de 1953, el empleo de la cepa E se extendió a considerables poblaciones civiles y militares del Perú. En junio de 1954, un total de más de 18.000 personas habían recibido vacunas de cepa E procedentes de un gran lote único, y alrededor de 6.000 individuos recibieron inoculaciones de placebo. Muchas de estas vacunaciones se efectuaron en el altiplano andino cercano a Cuzco o a Puno, como preparación para las continuas observaciones relativas a la efectividad de la vacuna, que se describirán más adelante en este trabajo. Si bien la mayor parte de este grupo no fue observada de cerca en cuanto a reacciones posteriores a la vacunación, puede resultar significativo el hecho de que no se notificara ninguna

CUADRO No. 3.—*Resultados de las pruebas de fijación del complemento en sueros peruanos recogidos seis semanas después de la vacunación con dosis de cepa E (Distrito de Ilave, Puno, Perú).**

Concentración de cepa E en membrana vitelina (%)	Total de sueros comprobados		Tanto por ciento de sueros con títulos de fijación del complemento de 1 en x				
	Número	Tanto por ciento positivo**	<2	2-4	8-16	32	64+
10,0	9	100			33	22	45
1,0	224	97 (98)	3	3	24	27	43
0,25	95	93 (96)	7	4	21	23	44
0,1	215	89 (95)	11	6	32	25	26

* Los resultados presentados corresponden sólo a personas que habían demostrado no ser inmunes en el momento de la vacunación.

** Las cifras entre paréntesis se basan en los sueros positivos con respecto a FC, más los sueros negativos con respecto a FC que habían demostrado contener anticuerpos neutralizantes.

reacción grave. En la ciudad de Arequipa o en las vecinas colectividades rurales próximas se localizaron poblaciones por un total de 3.144 personas, de las cuales 855 recibieron placebo, y fueron observadas sistemáticamente tanto en lo relativo a las reacciones a la vacunación como a la respuesta de anticuerpos (9).

Las observaciones serológicas (cuadro No. 3) se basaron en sueros recogidos 6 semanas después de la vacunación en 543 sujetos cuyos sueros anteriores a la vacunación no contenían anticuerpos FC. De éstos, todos menos 19, o sea 524 sujetos (el 96,5 %) demostraron contener anticuerpos AN y FC, o una de ambas clases, en sus sueros posteriores a la vacunación. Si bien dosis mayores de vacuna de cepa E volverían a estar en relación con niveles de anticuerpos algo más elevados, se tiene la impresión de que la dosis de 4,5 log. D.I.H. resulta adecuada. El estudio de la influencia de la vía de inoculación se limitó esencialmente a una comparación de la vía intramuscular y de la subcutánea, que no reveló diferencias importantes.

En las poblaciones de Arequipa y sus alrededores, sometidas a observación minuciosa, las reacciones a la vacunación se dividieron en dos clases principales: "inmediatas" y "retardadas". Las primeras aparecen de

CUADRO No. 4.—Resumen de las reacciones inmediatas en grupos vacunados con cepa E en Perú (Distrito de Ilave, Puno, Perú).

Tanto por ciento de concentración de cepa E en membrana vitelina	Número de personas vacunadas	Tanto por ciento de personas vacunadas que tuvieron:							
		Fiebre*	Cefalalgia	Náuseas	Vómitos	Malestar	Que guardar cama**	Reacciones locales†	Linfadenitis
10,0	101	64	71	17	7	61	7	54	42
1,0	951	30	49	9	3	29	2	30	21
0,25	252	5	23	1	1	14	1	29	14
0,1	955	5	17	2	1	8	0	7	7
Placebo	885	2	7	1	1	2	0	1	1

* Fiebre basada en antecedentes de "fiebre y escalofríos" o lectura de temperaturas de más de 38°C.

** Reducidos a guardar cama por lo menos un día.

† Las reacciones locales se graduaron a base del diámetro de la zona de enrojecimiento e inflamación. 1+ equivale a una pulgada aproximadamente; en el cuadro se registran las reacciones de 1+ o mayores.

CUADRO No. 5.—Resumen de las reacciones retardadas en los grupos vacunados con cepa E en Perú (Distrito de Ilave, Puno, Perú).

Tanto por ciento de concentración de cepa E en membrana vitelina	Número de personas vacunadas*	Tanto por ciento de personas vacunadas que tuvieron:										
		de todo grado	Reacciones						Fiebre	Cefalalgia	Náuseas o vómitos	Que guardar cama
			de grado**			Días de duración						
		1	2	3	1-3	4-6	7+					
10,0	83	21	7	10	4	8	2	10	7	19	4	2
1,0	754	29	21	8	1	15	10	4	10	29	3	1
0,25	121	19	12	6	1	12	6	1	3	18	1	1
0,1	724	26	26	6	1	12	11	3	5	25	3	1
Placebo	885	11	9	2	0	7	3	1	2	11	1	0

* Se han excluido las personas inmunes antes de la vacunación, excepto en el grupo de placebo, ya que en dichas personas casi no ocurrieron reacciones retardadas.

** Las reacciones se gradúan del modo siguiente: Grado 1, simple cefalalgia de cualquier duración (a menos que sea muy fuerte) o fiebre con jaqueca u otros síntomas por menos de 4 días; Grado 2, fuerte cefalalgia exclusivamente, u otras combinaciones o manifestaciones durante 4 días o más; Grado 3, enfermos de más cuidado, por ejemplo, los obligados a guardar cama por varios días.

ordinario entre las 12 y las 36 horas, y han remitido a las 96 horas; las principales manifestaciones, tanto locales como generales, se resumen en el cuadro No. 4 en relación con la dosis. La elevada frecuencia de reacciones asociadas condujo a la rápida interrupción del uso de la dosis de 10% de saco vitelino. Sin embargo, con dosis de 0,1 y 0,25% (de 4,5 a 5 log. D.I.H.), las reacciones fueron francamente tolerables, con breves cefalalgias como síntoma importante más frecuente. Otros hechos de importancia, no manifiestos en el cuadro, fueron: 1) la relación entre la reacción local y la vía de ino-

culación, produciendo la intradérmica las reacciones más intensas y la intramuscular las más leves; 2) las reacciones inmediatas no tuvieron relación con la edad, y 3) por sorprendente que parezca, tampoco tuvieron relación con el estado de inmunidad previo. Las pruebas existentes (8) sugieren que las reacciones inmediatas obedecen a la acción tóxica directa y no neutralizable de las rickettsias vivas.

El cuadro No. 5 resume los datos principales referentes a las reacciones retardadas, en relación con la dosis, utilizando un sistema arbitrario de graduación con respecto a la

gravedad. Habitualmente, estas reacciones comienzan entre el noveno y el décimocuarto días, y consisten en estados febriles de grado variable, cefalalgia, dolores generales y malestar. Las dosis y las vías (no indicadas) de inoculación no se relacionaron con las reacciones. Sin embargo, una relación importante que no se deduce del cuadro es la de la edad, dándose la frecuencia y gravedad mayores en personas de 30 años en adelante. Finalmente, debe observarse que las reacciones retardadas no aparecieron en personas previamente inmunes; por esta razón, y excepto en lo que respecta al grupo tratado con placebo, los datos del cuadro No. 5 se refieren únicamente a observaciones hechas en las 1.682 personas no inmunes antes de la vacunación. En general, descontando las reacciones en el grupo de placebo, alrededor del 15% de los sujetos experimentaron reacciones atribuibles a la cepa E, de las cuales del 4 al 8% alcanzaron una intensidad de grado 2, y el 1% de grado 3. Estas reacciones retardadas se creen debidas a una verdadera infección causada por las rickettsias de la cepa E y, con toda probabilidad, podrán cortarse por medio de tratamiento antibiótico.

ESTUDIO DE LA EFICACIA DE LA VACUNA DE
CEPA E EN LA PREVENCION DE
ENFERMEDADES QUE OBEDECEN
A CAUSAS NATURALES

Debe recordarse que antes de hacer la vacunación en el Perú, se recogieron numerosos sueros. En Arequipa y sus alrededores se extrajo sangre a todos los presuntos vacunados, mientras que en Cuzco y Puno tan sólo una parte (aproximadamente el 10%) fue sometida a la misma operación. Los resultados del estudio de estos sueros con respecto a los anticuerpos de *R. prowazeki* han sido notificados en otro lugar (10). Nuestro interés actual se centra en la pauta de seroinmunidad de las muestras de población (2.682 personas) del Departamento de Puno. La proporción general de inmunes fue del 58% y, por edades, comprendió desde el

8% en el grupo de 0 a 4 años, hasta el 94% entre las personas de 50 años o más. Esta pauta de edad reveló una tasa de infección anual, en la población menor de 30 años, de un 3% aproximadamente, en tanto que los escasos datos sobre morbilidad disponibles sugirieron un índice anual de 70 por 100.000 (o sea, el 0,07%) para casos notificados en la totalidad de la población. Basándose en los cálculos de población existentes, esto indica una proporción de 27 infecciones por caso notificado. Si bien hay varias razones que pueden explicar esta disparidad entre las infecciones estimadas y los casos notificados, la insuficiente atención médica observada en las poblaciones objeto de la encuesta induce a creer que uno de los factores importantes pudiera ser la notificación incompleta. Partimos de esta suposición al decirnos a utilizar esta población para un ensayo de campo de la eficacia de la vacuna de cepa E y para el desarrollo de nuestro plan de acción.

Aunque las vacunaciones se efectuaron en varios otros sectores de los Departamentos de Cuzco y Puno como preparación de los ensayos sobre el terreno, razones atañentes a la ejecución de actividades determinaron que concentráramos finalmente nuestra atención en un grupo de colectividades contiguas al Lago Titicaca, en el Departamento de Puno, y designadas como el distrito de Ilave. Aunque las vacunaciones se terminaron a principios del año, las observaciones sobre el terreno no comenzaron hasta finales de 1954 y prosiguieron hasta fines de marzo de 1958. Durante este período, se llevó a cabo un esfuerzo sistemático para descubrir todos los casos de enfermedad febril y recoger pares de sueros destinados a la diagnosis de laboratorio. De este modo, esperábamos poder reconocer todas las infecciones tíficas manifiestas ocurridas durante el período de observación en una población determinada de unas 34.000 personas, que comprendían individuos vacunados, inoculados con placebo y grupos de control no inoculados, aunque sí enumerados.

CUADRO No. 6.—*Diversos datos de interés relativos a los hogares observados en el Distrito de Ilave, Puno, Perú.**

Número de subdivisiones de observación	17
Variación del número de casas por subdivisión	300-541
Número total de casas	7,562
Promedio de casas por subdivisión	448
Variación de la población por subdivisión	1.444-2.455
Total de población observada	34,018
Promedio de población por subdivisión	2,001
Tanto por ciento de casas que usan DDT	63,2
Tanto por ciento de casas con bicicleta	5,9
Tanto por ciento de casas con máquina de coser	13,7
Tanto por ciento de casas con estufa de petróleo	12,7
Tanto por ciento de familias consideradas "ricas"	5,6
Tanto por ciento de familias consideradas "clase media"	35,9
Tanto por ciento de familias consideradas "clase pobre"	58,5
Tanto por ciento de población que sabe leer	22,4

* Estos datos proceden de un censo definitivo realizado en abril de 1958.

Algunas características de la zona geográfica observada y de sus habitantes

El distrito de Ilave se encuentra a una altitud de 12.000 pies (3.700 m.), aproximadamente, comprende unos 490 Km.² y contiene 7.562 casas esparcidas en pequeños grupos por el distrito o apiñadas en la pequeña villa semirrural de Ilave, que cuenta con unos 4.000 habitantes. Como primera medida fundamental, se levantó un mapa minucioso del distrito, en el cual se localizaron y numeraron todas las casas, se hizo un censo de los miembros de cada familia y se crearon 17 subdistritos como unidades de observación. En general, la población era, desde el punto de vista racial, casi india pura, en gran parte analfabeta, y su género de vida, basado en labores agrícolas de escaso rendimiento, era sumamente primitivo. La mayoría de las casas era de adobe,

pequeñas y mal iluminadas, y de una sola habitación. Una elevada plataforma de barro seco, con unas cuantas mantas raídas, servía a menudo de cama a toda la familia. De ordinario, sus ropas eran de hechura casera, confeccionadas con material hilado en casa y tejidas con trama múltiple y espesa, para proteger el cuerpo del constante frío. Aunque los ríos, arroyos, estanques y el propio Lago Titicaca pueden utilizarse en muchos casos para bañarse, la frialdad del agua y del aire son argumentos decisivos en contra. Dadas estas condiciones, no extrañará que la inspección inicial de unas 1.500 personas acusase índices de infestación por piojos de hasta 96 %, con un promedio general del 82 %.

Al concluir el estudio, se levantó un nuevo censo de la zona de observación, cuyos resultados aparecen en los cuadros Nos. 6 y 7. El primero ofrece información básica relativa a las subdivisiones objeto de la observación, y proporciona algunos datos socioeconómicos de índole diversa. A pesar de la considerable expansión de la enseñanza escolar, tan sólo el 22 % saben leer y escribir. Un hecho especialmente significativo es que, durante el período de observación, el DDT apareció como producto comercial en el mercado y se utilizó hasta cierto punto en el 63 % de las casas. El cuadro No. 7—que sirve al doble propósito de mostrar la distribución por edad y sexo de la población observada (excepto unos 700 sujetos a los que no se pudo inspeccionar) y la frecuencia de infestación por piojos al concluir el estudio en abril de 1958—parece reflejar el mencionado uso del DDT, ya que el índice general de infestación por piojos del cuerpo había descendido al 43 %. Características de especial interés que el cuadro muestra, son: 1) la edad se relaciona únicamente con la infestación de varones por piojos del cuero cabelludo, teniendo los niños varones piojos con más frecuencia que los adultos del mismo sexo, y 2) los piojos del cuerpo y del cuero cabelludo son más comunes entre las hembras que entre los varones.

El alcance de las condiciones socioeconó-

CUADRO No. 7.—*Infestación por piojos entre los habitantes del Distrito de Ilave, Departamento de Puno, Perú, en abril de 1958, por edad y sexo.*

Edad (en años)	Varones			Mujeres			Total		
	No.	Tanto por ciento de infestación		No.	Tanto por ciento de infestación		No.	Tanto por ciento de infestación	
		Cabeza	Cuerpo		Cabeza	Cuerpo		Cabeza	Cuerpo
0-4	2385	13,9	42,5	2101	24,4	45,9	4486	18,8	44,1
5-9	2756	16,2	55,2	2518	38,3	58,6	5274	26,8	55,8
10-14	2035	13,5	44,9	1753	35,7	53,7	3788	23,8	49,1
15-19	1433	4,3	30,0	1492	23,2	43,5	2925	13,9	36,9
20-29	2349	3,2	23,7	2653	18,8	39,8	5002	11,5	32,2
30-39	1901	1,4	24,9	2156	23,2	46,1	4057	13,0	36,2
40-49	1478	2,4	24,4	1546	24,3	46,4	3024	13,6	35,6
50+	2225	5,9	38,4	2509	34,1	57,2	4734	20,8	48,4
Total . . .	16.562	8,3	36,6	16.728	28,0	49,4	33.290	18,2	43,2

micas bosquejadas en el cuadro No. 6 requiere mayor comentario. En dicho cuadro no se nota que, dentro del distrito, había importantes variaciones en cuanto a las condiciones de vida en los distintos sectores, pues la villa de Ilave y una zona rural bastante grande, conocida por Acora, disfrutaban de mejores condiciones que el resto del distrito. Por fortuna, estas variaciones no influyen en la interpretación de los resultados del estudio, ya que la proporción de personas vacunadas fue casi la misma en las diferentes zonas.

Métodos de descubrimiento de casos y recogida y manejo de especímenes

El plan básico estaba encaminado a asegurar una vigilancia tan completa y continua como fuera posible de la población sometida a observación. Como ya se ha mencionado, el distrito de Ilave se dividió en 17 sectores. A cada uno de éstos se destinó un inspector sanitario encargado de visitar todas las casa de su sector, en un ciclo de 10 a 12 días, para cerciorarse del estado sanitario habitual y temporal de sus habitantes. El descubrimiento de cualquier enfermedad febril se notificaba al médico estacionado permanentemente en Ilave, sede de las operaciones de campo para controlar los 17 sectores de observación. Este último visitaba al enfermo inmediatamente, obtenía y re-

gistraba los datos clínicos pertinentes, proporcionaba, de modo gratuito, el tratamiento que parecía más indicado al caso, e, inicialmente, recogía muestras de sangre (sirviéndose de un tubo aspirador para sangrías) y, a ser posible, repetía dicha operación a las dos semanas, aproximadamente. La presencia del médico y el hecho de que se supiera que sus servicios eran gratuitos, dieron por resultado una importante notificación voluntaria de enfermedades durante los días transcurridos entre las visitas del inspector.

Las muestras de sangre, una vez tomadas, se almacenaban en un refrigerador y se enviaban por ferrocarril, a intervalos frecuentes, al laboratorio base, situado en Arequipa. En él se separaban los sueros colocándolos en frasquitos con tapón roscado, se retenía una parte alícuota de los mismos en Arequipa y se enviaba el resto periódicamente a Nueva Orleans, por vía aérea.

Examen de los sueros

Aunque en ciertos casos se hacían otras pruebas *in vitro*, tales como la de Weil-Félix, la prueba básica empleada en la labor de descubrimiento de casos era la de fijación del complemento. La preparación de antígenos (con membranas vitelinas infectadas por la cepa E) y el método básico (Kolmer modificado) ya se han descrito en detalle en

otro lugar (6, 7). Durante los 2 primeros años, los sueros se inactivaron a 56° C. y se probaron empleando solamente 2 unidades de antígeno. En el último año y medio, se probaron todos los sueros contra 2 y contra 8 unidades de antígeno y en partes alícuotas inactivadas a 56° y 60° C., respectivamente. Los sueros recibidos con anterioridad se comprobaron de nuevo por este método, siempre que lo permitiera la cantidad de suero sobrante (por desgracia, sólo ocurrió en una pequeña proporción de casos). Se esperaba (11) que esta variación de método facilitaría la diferenciación entre los anticuerpos resultantes de una infección reciente y los persistentes tras una infección ocurrida en un pasado remoto. En unos pocos casos, los sueros se probaron también con respecto a los AN (neutralización de la acción tóxica, para los ratones, de suspensiones rickétsicas sumamente infectivas).

En la interpretación definitiva, se depositó la máxima confianza en los resultados de FC obtenidos con 2 unidades de antígeno, aunque, en unos cuantos casos, sirvieron de ayuda los resultados de las pruebas auxiliares. La gran prevalencia, ya demostrada, de seroinmunes en la población (10) complicó indudablemente la interpretación de los resultados serológicos, especialmente cuando se demoró la recogida de especímenes iniciales. Al final se establecieron los siguientes criterios, bastante arbitrarios: 1) la clasificación como infección "definida" se reservó para los casos en que: a) el espécimen inicial era negativo y el segundo positivo en títulos de 1:16 ó más altos (con ciertas excepciones que se indican más adelante); b) había en los títulos una elevación de un cuádruplo o mayor aún; c) en ambos especímenes (o, en unos pocos casos, en el único espécimen disponible), los títulos eran de 1:128 ó más altos, o d) unos cuantos casos en que los resultados con 2 unidades de antígeno no cumplieron las condiciones antedichas, pero en los que el empleo de 8 unidades de antígeno ocasionó un marcado incremento en los títulos; 2) se hizo la clasificación de infección "posible" cuando: a) un primer

especimen negativo iba seguido de un segundo espécimen con títulos de 1:4 ó 1:8; b) se observaba un cambio de negativo a títulos de 1:16 o mayores, que no parecían compatibles con la información relativa a los días de enfermedad en que se había recogido el suero, o, c) un espécimen inicial con títulos de 1:128 iba seguido de otro con títulos más bajos.

También debe mencionarse que, en un esfuerzo por comprobar las infecciones no descubiertas, se recogió un grupo final de sueros procedentes de personas, sometidas a sangría en 1953 ó 1954, cuyos sueros fueron entonces negativos con respecto a la fijación del complemento y que luego no recibieron vacuna. Los sueros recogidos de nuevo y, en todos los casos posibles, los anteriores especímenes correspondientes, se probaron respecto a los anticuerpos FC con 2 unidades de antígeno. Asimismo, y cuando lo permitió la cantidad de suero, se probaron con respecto a los AN.

La frecuencia observada de infecciones tíficas

Durante el período de observación (alrededor de 3 años y medio), se estudiaron, en total, 1.546 personas: 831 pacientes y 715 contactos. En el cuadro No. 8 aparece su distribución por edad, sexo y estado de vacunación. Como nota peculiar, quizá debido al problema de recogida de sangre, tan sólo una de dichas personas era menor de 5 años y se incluyó en el grupo de 5 a 9 años. Este total constituyó el 4,4% de la población general observada, o el 4,2% y 4,6% de los varones y mujeres, respectivamente.

De acuerdo con el criterio serológico ya descrito, de los 1.546 pacientes y contactos estudiados se consideró que un total de 82 padecían infecciones "definidas" o "posibles". Debe tenerse en cuenta que 225 de los 1.546 quedaron excluidos de toda posible selección debido a un acopio incompleto de especímenes o a calidad y cantidad inadecuadas de los especímenes recibidos en Nueva Orleans. Los pacientes y contactos sospechosos de sufrir infecciones tíficas, se presentan en los cuadros No. 9 y 10 distribuidos por

CUADRO No. 8.—Distribución de pacientes y contactos estudiados en el Distrito de Ilave (Puno, Perú) durante 1954-58, por grupos de edad amplios, estado de vacunación y sexo.

Grupo de edad (años)	Pacientes estudiados						Contactos estudiados						Total personas estudiadas
	No inoculados	Placebo	Cepa E	Todos los grupos			No inoculados	Placebo	Cepa E	Todos los grupos			
				Varones	Mujeres	Ambos				Varones	Mujeres	Ambos	
5-9	26	4	3	19	14	33	13	3	2	10	8	18	51
10-19	117	37	31	90	105	195	58	25	18	61	40	101	296
20-39	230	45	49	154	170	324	199	40	64	157	146	303	627
40+	209	35	45	127	152	279	209	27	57	143	150	293	572
Todos ..	582	121	128	390	441	831	479	95	141	371	344	715	1.546

CUADRO No. 9.—Distribución de pacientes que, serológicamente considerados, han sufrido infecciones tíficas en el Distrito de Ilave (Puno, Perú) durante 1954-58, por edad, estado de vacunación y sexo.

Grupo de edad (años)	Pacientes: sólo de infecciones definidas						Pacientes: de infecciones definidas y posibles					
	No inoculados	Placebo	Cepa E	Todos los grupos			No inoculados	Placebo	Cepa E	Todos los grupos		
				Varones	Mujeres	Ambos				Varones	Mujeres	Ambos
5-9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
10-19	3	4	2	5	4	9	6	5	3	7	7	14
20-39	12	7	1	7	13	20	18	8	2	10	18	28
40+	8	1	4	7	6	13	10	2	5	10	7	17
Todos ..	23	12	7	19	23	42	34	15	11	28	32	60

edad y sexo y, en el caso de los pacientes, por estado de vacunación. Con respecto al cuadro No. 8, puede verse que la proporción general de los sujetos estudiados a quienes se consideró atacados por infección tífica, fueron: con respecto a los pacientes, el 5% (infecciones "definidas") o el 7% ("definidas" y "posibles"); y con respecto a los contactos, el 2 ó 3%, sobre la misma base, respectivamente. Las diferencias en estas proporciones con respecto al sexo no fueron importantes. En cambio, la edad puede haber sido un factor importante entre los pacientes de ambas categorías, "definida" y "posible"; el 77% tenían 20 años o más y el 98%, 10 años o más. Esta distribución desproporcionada de presuntos pacientes de tifo entre la población adulta, adquiere particular interés en relación con los cálculos estimativos que se examinarán más adelante y que sugieren que las infecciones fueron

CUADRO No. 10.—Distribución de contactos que, considerados serológicamente, han sufrido infecciones tíficas en el Distrito de Ilave (Puno, Perú) durante 1954-58, por edad y sexo, sin tener en cuenta el estado de vacunación.

Grupo de edad (años)	Número de contactos: infecciones definidas			Número de contactos: infecciones definidas y posibles		
	Varones	Mujeres	Ambos	Varones	Mujeres	Ambos
5-9	1	1	2	1	1	2
10-19	0	1	1	2	2	4
20-39	1	7	8	3	8	11
40+	1	3	4	1	4	5
Todos .	3	12	15	7	15	22

realmente mucho más numerosas en los grupos más jóvenes.

La información relativa a 60 pacientes de "infecciones", se tabula en el cuadro No. 11, agrupando por separado las infecciones

CUADRO No. 11.—*Tabulación de pacientes sospechosos de infecciones por R. prowazeki, con expresión de la edad, sexo, antecedentes de vacunación, estado clínico y datos serológicos (Distrito de Ilave, Puno, Perú).*

Caso No.	Edad y sexo	Estado de vacunación	Suero recogido (día de enfermedad)	Títulos de anticuerpos (1:x)		Resumen clínico	
				Fijación del complemento	Otros (según se indica)*	Síntomas y signos importantes	Impresiones clínicas
a. Pacientes a los que se considera con infecciones definidas**							
836	40F	No vacunados	10 22	8 64	4 (NR) 512	Fiebre, cefalalgia, malestar	Tifo o fiebre tifoidea
842	18M	Placebo	20 35	2 32	2 (NR) 32	Fiebre, cefalalgia, malestar, tos	Fiebre tifoidea y bronquitis
886	30F	No vacunados	2 21	512 512	32 (NR)	Fiebre, cefalalgia, dolores generales, náuseas, tos	Fiebre tifoidea y bronquitis
967	60M	No vacunados	8 21	8 64		Malestar, escalofríos, fiebre, dolor de garganta	Amigdalitis
969	27M	No vacunados	2 24	32 128		Escalofríos, fiebre, cefalalgia, malestar	Faringitis
001	22M	Placebo	20 34	512 512		Escalofríos, cefalalgia, dolor de garganta, tos, fiebre	Fiebre de origen desconocido
005	10F	Vacunado con cepa E	7 22	32 512		Escalofríos, fiebre, malestar, dolores generales, náuseas	Fiebre de origen desconocido
006	17F	Vacunado con cepa E	3 18	512 512		Escalofríos, fiebre, malestar, jaqueca	Amigdalitis
101	46M	No vacunados	4 15	4 32		Fiebre, malestar, cefalalgia, parótidas con hinchazón dolorosa	Parotiditis
102	26M	No vacunados	1 11	64 128		Fiebre, cefalalgia, debilidad, malestar	Catarro común
103	24M	No vacunados	6	512		Escalofríos, debilidad, cefalalgia, fiebre, dolores generales, tos	Ncumonía
104	19F	No vacunados	10 15	8 128		Fiebre, malestar, debilidad, dolores abdominales	Enteritis
105	50F	No vacunados	1 11	64 128		Fiebre, tos seca, malestar	Bronquitis
111	17M	Placebo	7 16	16 128		Fiebre, escalofríos, cefalalgia, delirio	Tifo o fiebre tifoidea
166	60F	Vacunado con cepa E	?	128		No se dispone de datos	
1226	46F	No vacunados	2 17	2 32		Malestar, dolores en las articulaciones, anorexia, dolores abdominales, cefalalgia	Fiebre tifoidea
1212	25F	Placebo	4 21	2 32		Fiebre, escalofríos, cefalalgia, malestar, sudores	Amigdalitis
1227	26M	No vacunados	37	128		Cefalalgia, fiebre, malestar	Fiebre tifoidea
1228	20F	No vacunados	1 15	2 64		Cefalalgia, malestar	Fiebre tifoidea
1279	13M	No vacunados	7 21	512 512		Cefalalgia, malestar, fiebre, debilidad, delirio, dolores generales	Tifo

CUADRO No. 11.—Cont.

Caso No.	Edad y sexo	Estado de vacunación	Suero recogido (día de enfermedad)		Títulos de anticuerpos (1: x)		Resumen clínico	
					Fijación del complemento	Otros (según se indica)*	Síntomas y signos importantes	Impresiones clínicas
a. Pacientes a los que se considera con infecciones definidas (Cont.)**								
1357	38F	No vacunados	10 22	4 16			Fiebre, cefalalgia, malestar, artalgia, epistaxis, dolores abdominales	Fiebre tifoidea
1361	30F	No vacunados	7 19	512 128			Malestar, cefalalgia, fiebre, dolores generales	Tifo o fiebre tifoidea
1430	25F	Placebo	6	128			No se dispone de datos	Amigdalitis o tifo
1463	40M	Vacunado con cepa E	2 17	128 128	96 (NR)		Escalofríos, cefalalgia, malestar, dolores generales	Amigdalitis o tifo
1509	32F	No vacunados	7 21	128 128			Cefalalgia, malestar, anorexia, tos seca, delirio, dolores generales	Tifo
1512	21M	No vacunados	3 23	2 32			Dolor de garganta, cefalalgia, dolores generales, epistaxis	Tifo o fiebre tifoidea
1528	35M	Placebo	3 15	2 16			Cefalalgia, vértigo, dolores generales	Tifo o fiebre tifoidea
1643	28F	Placebo	5 15	8 64			Malestar, cefalalgia, dolores generales, fotofobia, sarpullido en tórax y abdomen	Sarampión
1785	20F	Placebo	6 20	128 128			Fiebre, malestar, dolores generales	Tifo o fiebre tifoidea
1846	18M	No vacunados	14 17	128 128			Fiebre, cefalalgia, dolores generales, tos	Tifo o fiebre tifoidea
1935	45M	Vacunado con cepa E	27	128			Escalofríos, cefalalgia, malestar, dolores generales, tos seca, dolor de garganta	Tifo o faringitis
1982	45M	Vacunado con cepa E	6 20	2 16			Cefalalgia, fiebre, dolores generales, delirio, esputos sanguíneos mucopurulentos	Tifo o neumonía
2002	20M	No vacunados	7 21	2 32			Cefalalgia intensa, dolores generales, náuseas, tos, delirio	Tifo o fiebre tifoidea
2212	65F	No vacunados	1 25	2 16			Mal de garganta, fiebre	Amigdalitis
2400	45M	No vacunados	17 ?	8 32			Fiebre, cefalalgia, malestar, dolores abdominales y generales	Tifo o fiebre tifoidea
2523	70M	No vacunados	3 23	4 16			Escalofríos, fiebre, malestar, náuseas, tos	Tifo o fiebre tifoidea
2755	26F	Placebo	17 35	16 64			Acceso gradual, cefalalgia, malestar, dolores generales, fiebre, tos seca	Tifo o fiebre tifoidea
2893	20F	Vacunado con cepa E	23 37	16 64	256 (FCS) 256		Acceso gradual, cefalalgia, delirio, fiebre alta, malestar, erupción petequial	Tifo o fiebre tifoidea
2894	17F	Placebo	7 21	64 256	256 (FCS) 256		Acceso repentino, cefalalgia, malestar, epistaxis, dolores generales, delirio	Tifo o fiebre tifoidea
3341	49M	Placebo	1 19	1024 1024			Acceso repentino, escalofríos, malestar, cefalalgia, epistaxis, delirio, dolores generales	Tifo o fiebre tifoidea

CUADRO No. 11.—*Cont.*

Caso No.	Edad y sexo	Estado de vacunación	Suero recogido (día de enfermedad)	Títulos de anticuerpos (1:x)		Resumen clínico	
				Fijación del complemento	Otros (según se indica)*	Síntomas y signos importantes	Impresiones clínicas
a. Pacientes a los que se considera con infecciones definidas (<i>Cont.</i>)**							
3767	20F	Placebo	4 21	8 32	2 (FC60) 16	Acceso repentino, cefalalgia, fiebre, malestar, dolores generales, tos epistaxis, petequias en el cuerpo	Tifo o fiebre tifoidea
b. Pacientes a los que se considera con infecciones posibles**							
894	70M	No vacunados	3 17	2 8		Malestar, dolores generalizados, escalofríos, fiebre, tos seca	Amigdalitis
1028	40M	Placebo	7 21	2 4		Escalofríos, fiebre, cefalalgia, dolor de garganta, anorexia, malestar	Fiebre tifoidea, glositis
1210	38F	No vacunados	6 21	128 32		Escalofríos, fiebre, malestar, dolores generales, cefalalgia, anorexia	Amigdalitis
1223	60F	No vacunados	14 28	2 16		Fiebre, cefalalgia, malestar, dolor lumbar, confusión, anorexia	Tifo o fiebre tifoidea
1348	18F	No vacunados	12 26	2 8		No se dispone de datos	
1452	25F	Placebo	14 23	2 8		Fiebre, cefalalgia, malestar, dolores abdominales y generales, diarrea	Tifo
1788	32M	Vacunado con cepa E	19 23	2 16		Cefalalgia, malestar, dolores abdominales, diarrea sanguinolenta, delirio	Tifo o fiebre tifoidea
1861	25M	No vacunados	4 19	128 64		Fiebre, escalofríos, malestar, cefalalgia, tos	Tifo o fiebre tifoidea
2215	45M	Vacunado con cepa E	12 36	2 8		Escalofríos, malestar, cefalalgia, dolores generales, tos seca, dolor de garganta, delirio	Tifo o tuberculosis
2221	30F	No vacunados	6 20	2 8		Cefalalgia, escalofríos, fiebre, malestar, alucinaciones, tos seca, diarrea	Tifo
2763	14M	Placebo	17 36	2 8		Escalofríos, cefalalgia, malestar, dolores generales, delirio, tos	Tifo o fiebre tifoidea
2764	6M	Vacunado con cepa E	3 22	2 8		Fiebre, escalofríos, malestar, cefalalgia, diarrea, dolor abdominal	Tifo o fiebre tifoidea
3293	22F	No vacunados	14 29	2 16	2 (FC8) 8	Malestar, dolores generales, escalofríos, cefalalgia, delirio, petequias, epistaxis	Tifo, faringitis
3515	19F	No vacunados	10 24	2 16	2 (FC8) 8	Acceso repentino, cefalalgia, malestar, dolores generales, diarrea, epistaxis, tos húmeda	Tifo o fiebre tifoidea

CUADRO No. 11.—*Cont.*

Caso No.	Edad y sexo	Estado de vacunación	Suero recogido (día de enfermedad)	Títulos de anticuerpos (1:x)		Resumen clínico	
				Fijación del complemento	Otros (según se indica)*	Síntomas y signos importantes	Impresiones clínicas
b. Pacientas a los que se considera con infecciones posibles (<i>Cont.</i>)**							
3607	12M	Vacunado con cepa E	9 24	2 8	2 16	Acceso repentino, malestar, dolores generales, diarrea sanguinolenta, manchas rosadas abdominales	Tifo o fiebre tifoidea
3833	10F	No vacunados	10 24	2 8	2 (FC8) 16	Escalofríos, malestar, cefalalgia, dolores en las articulaciones, tos seca, delirio, diarrea, erupción en el tórax	Tifo o fiebre tifoidea
3987	21M	No vacunados	13 26	AC 16	2 (FC60) 16	Acceso repentino, fiebre, cefalalgia, malestar, dolor abdominal, dolor de garganta, delirio	Tifo, fiebre tifoidea o sarampión
4003	20F	No vacunados	18 31	2 16	2 (FC8) 16	Acceso repentino, malestar, cefalalgia, dolores generales, náuseas, dolor abdominal	Tifo o fiebre tifoidea

* NR, equivale a prueba de neutralización en ratones; FC8, equivale a: fijación del complemento utilizando 8 unidades de antígeno; FC60, equivale a: fijación del complemento con suero inactivado a 60°C.

** Para conocer el criterio determinante de la condición de definido y probable, véase el texto correspondiente.

“definidas” y las “posibles”. La clasificación de una infección como “definida” o “posible” se basó únicamente en los criterios serológicos ya mencionados y se efectuó antes de disponer de información clínica. Aunque se registraron algunas impresiones clínicas un tanto sorprendentes, por ejemplo: bronquitis, amigdalitis, catarro común, parotiditis (en un varón de 46 años) y sarampión (en una mujer de 28 años), la gran mayoría de los pacientes seleccionados sobre una base serológica dieron al observador clínico la impresión de que padecían tifo o fiebre tifoidea y, en todos los casos, la sintomatología principal era bastante compatible con la del tifo. No obstante, debe admitirse que tan sólo en lo que atañe a un número relativamente bajo de casos individuales puede uno sentirse por completo seguro de la diagnosis del tifo. En las condiciones reinantes no pudo intentarse el aislamiento del agente, lo cual hubiera proporcionado una base enteramente segura.

En el cuadro No. 12, los 60 pacientes con “infecciones” han sido encuadrados en sus respectivos grupos por estado de vacunación, y los índices de ataque por 10.000 habitantes se han computado, para los 3 años y medio del período de observación, a base de los datos sobre población obtenidos del último censo terminado en abril de 1958. A pesar del hecho de que las cifras relativas a la población no citan los nacimientos, defunciones o la inmigración y emigración que puedan haber ocurrido durante el período de observación (posiblemente de igual extensión en cada grupo), se tiene la impresión de que estas cifras ofrecen una base bastante adecuada para computar las tasas de ataque comparativas que se han presentado. Las diferencias en las tasas de ataque son compatibles con la eficacia de campo de la vacuna de cepa E, pero siendo tan reducido el número de pacientes descubiertos, no tienen importancia desde el punto de vista estadístico ($P > 0,05$).

CUADRO No. 12.—Cálculo de las tasas de ataque por cada 10.000 habitantes durante los tres años y medio del período de observación en el Distrito de Ilave (Puno, Perú) basado en los sujetos clasificados serológicamente como pacientes de tifo* y en datos sobre población procedentes del censo de 1958.

Estado de vacunación	Número de habitantes observado	Tifo definido		Tifo definido y posible	
		Número de pacientes	Tasa de ataque	Número de pacientes	Tasa de ataque
Vacunados con cepa E	9.194	7	7,6	11	12,0
No vacunados					
Placebo	5.416	12	22,2	15	27,7
No inoculados.	19.408	23	11,9	34	22,7
Total no vacunados.	24.824	35	14,1	49	23,8
Totales	34.018	42	12,4	60	17,6

* La lista de los distintos pacientes aparece en el cuadro No. 11.

Cálculo estimativo de la frecuencia de infecciones no descubiertas

Ya se ha indicado que, para obtener las tasas de inmunidad observadas en 1953-54, en que eran inmunes el 90% de los sujetos mayores de 30 años, es necesario presuponer una tasa de infección anual del 3% en la población menor de 30 años. En el distrito de Ilave había 12.000 personas, aproximadamente, en este grupo de menos edad, de las cuales alrededor del 63% no fueron vacunadas. Dentro de este sector no vacunado de la población joven, y suponiendo que continuaran prevaleciendo las condiciones anteriores para la transmisión de la infección, podíamos haber esperado casi 800 infecciones en el curso de los 3 años y medio, más o menos, del período de observación. Sin embargo, nuestros más tenaces esfuerzos al servicio del descubrimiento de casos pusieron de manifiesto, dentro de la población de todas edades no vacunada, tan sólo 42 infecciones "definidas" y 18 "posibles" asociadas a enfermedad, más un escaso número de infecciones asintomáticas entre los 715 contactos de los pacientes sometidos a estudio.

Debido a que no se podía establecer con certeza la continuidad de las mismas condiciones anteriores favorables a la transmisión de la *R. prowazeki*, especialmente en vista del empleo espontáneo de DDT por muchos de los habitantes y la posible rela-

ción de este empleo con el ya notado descenso en la infestación por piojos, se realizó un esfuerzo especial a fin de conseguir una base para calcular la cantidad de infecciones que en realidad ocurrieron durante el período de observación. A este respecto, a fines de 1957 se estudiaron muestras de sangre procedentes de 468 personas que no habían sido vacunadas y cuyos sueros, recogidos a últimos de 1953 o principios de 1954 (casi cuatro años antes), habían sido negativos en cuanto a anticuerpos FC. Debe tenerse presente que dicho total de sujetos comprendía 115 personas cuyos sueros anteriores habían sido probados también con respecto a los anticuerpos neutralizantes, habiendo mostrado neutralización positiva 38 de dichas personas. Todos los sueros recogidos en 1957 se sometieron a la prueba de anticuerpos FC y aquellos de los cuales había suficiente cantidad de suero disponible, se sometieron asimismo a la prueba de anticuerpos neutralizantes. Los resultados aparecen en el cuadro No. 13.

La interpretación de estos resultados no está exenta de ciertas dificultades, pues se basa en determinadas suposiciones: 1) los anticuerpos FC no son siempre permanentes; 2) los anticuerpos AN persisten mucho más que los FC; 3) en caso de pruebas negativas con respecto a los AN, los resultados positivos en relación con los FC deben considerarse como no específicos; 4) sean cuales

fueren los resultados con respecto a los FC obtenidos con los sueros de 1957, todo caso de conversión de negativo a positivo en relación con los AN indica infección; 5) todos los casos de conversión de negativo a positivo respecto de los FC, en los cuales los sueros de 1953-54 no fueron sometidos a la prueba de AN, pero sí los de 1957, con resultados positivos, también indican infección, y 6) en cada grupo de sueros clasificados según los resultados relativos a los FC, la distribución de los sueros que contienen AN entre los no sometidos a esta prueba, es proporcional a la observada entre los sueros pertenecientes al mismo agrupamiento, con respecto a los FC, que fueron sometidos a prueba. El análisis comienza con la eliminación de las 38 personas que se sabe acusaron neutralización positiva en 1953-54, ya que no pueden considerarse como sujetos que han estado expuestos al riesgo de una nueva infección. Aplicando el principio indicado en la recién mencionada suposición 6), el verdadero denominador de los que se encuentran expuestos a dicho riesgo se calcula en 77 (número de neutralizaciones negativas conocidas en 1953-54) + $77/115 \times 353$ (número de los que se desconocía el estado a este respecto), o sea 313. Los numeradores correspondientes a las infecciones definidas y probables se computan más adelante.

Infecciones definidas

1. Conversiones AN (suposición 4)	6
2. Conversiones FC, positivos AN en 1957 (suposición 5)	15
	—
Total de infecciones definidas	21

Infecciones probables

Sueros que resultaron positivos FC, pero que no se probaron para AN; cifras derivadas de la suposición 6	
1. Sueros con títulos FC de 1:16 ó mayores	16
2. Sueros con títulos FC de 1:4 ó 1:8	21
	—
Total de infecciones probables	37

Empleando estos numeradores, las tasas de infección resultantes durante el período

de observación fueron: 6,7% para las infecciones definidas, y 18,5% para las definidas y probables combinadas. En todo lo expuesto, no se han tenido en cuenta las posibles conversiones en el estado de neutralización entre los sueros no probados a este respecto en 1957, pero que resultaron negativos en cuanto a los FC. Como ya se ha indicado, se considera que el 40,1% de la población observada ha sido no inmune antes de iniciar el experimento; la aplicación de este factor a las 24.824 personas que no fueron vacunadas, arroja un total de 9.954 no inmunes en los sectores de población no vacunados. La aplicación de las tasas de infección antedichas sugiere que, en el cuatrienio que va de 1953-54 a finales de 1957, ocurrieron entre 666 y 1.840 infecciones tíficas. Este cálculo no da la impresión de que el descenso de la infestación por piojos redujera en medida importante la transmisión de *R. prowazeki*. En cambio, induce a suponer que eran precisas de 13 a 51 infecciones para producir un caso que, empleando todos nuestros esfuerzos, pudiera ser identificado como tifo clínico.

COMENTARIOS

Otro posible título de este trabajo pudiera muy bien haber sido "Estado actual de la vacuna antitífica de cepa E", ya que representa un esfuerzo, no sólo para mostrar los datos más recientes de que puede disponerse, sino para resumir con suficiente detalle la información anterior. Habiendo examinado lo que se sabe en la actualidad, será posible estar de acuerdo sobre ciertos puntos que pueden considerarse como bien establecidos y reconocer determinados problemas importantes que merecen ulterior estudio.

En primer lugar, la cepa E es, sin la menor duda, una verdadera variante, de reducida virulencia para el hombre y algunos animales, de la *R. prowazeki*. Aunque la vacuna de cepa E no está desprovista de potencial para producir reacciones, ha sido utilizada ya en el hombre lo suficiente para inspirar confianza en cuanto a su inocuidad primaria. Ya se han descrito su dosificación y método

CUADRO No. 13.—Distribución de los resultados de las pruebas serológicas de sueros recogidos a fines de 1957 procedentes de personas sometidas a sangría en 1953 o principios de 1954, que no fueron vacunadas con cepa E y cuyos sueros iniciales resultaron negativos con respecto a la fijación del complemento. (Distrito de Ilave, Puno, Perú).

1953 ó 1954 Anticuerpos neutralizantes (AN)	Número de sueros con resultados serológicos indicados en 1957									
	Títulos FC de 1:16 o >			Títulos FC de 1:4 a 1:8			Títulos FC < de 1:4			Totales
	AN+*	AN-*	AN?*	AN+	AN-	AN?	AN+	AN-	AN?	
Positivo.....	0	0	2	2	0	6	2	4	22	38
Negativo.....	2	1	3	2	2	5	2	21	39	77
Desconocido.....	1	1	23	14	18	42	18	111	125	353
Totales.....	3	2	28	18	20	53	22	136	186	468

* AN+, AN- y AN? equivalen a: Anticuerpos neutralizantes positivos, negativos y desconocidos (sin comprobar) respectivamente.

de su administración (4,5 log. D.I.H., por vía intramuscular) que, en condiciones de campo, dan por resultado una respuesta serológica en casi el 95% de los vacunados no inmunes. Si bien los anticuerpos FC pueden desaparecer en un plazo de 12 meses de hasta el 75% de las personas vacunadas, se ha visto que los AN, con pocas excepciones, persisten hasta el límite del período de observación (un total de 66 meses) y con tal estabilidad de su nivel de título, durante los 4 a 5 años de observación definitivos, como para justificar una extrapolación indefinida, en lo futuro, de dicha persistencia. Asociada a esta persistencia de anticuerpos, se ha encontrado una firme resistencia a la prueba homóloga virulenta, en dosis que hicieron descender los controles no inmunes tras períodos de incubación de sólo seis días. También ha habido señales de importante resistencia cruzada a la prueba de tifo murino.

La patogénesis de las infecciones por cepa E en el hombre, es uno de los problemas cuyo estudio está incompleto. Hay indicios bastante terminantes de que la verdadera infección es, en realidad, inducida. En primer lugar, simples inóculos de vacunas de tifo que no se multiplican, no inducen la respuesta ordinaria de anticuerpos observada con la cepa E, excepto cuando se emplean adyuvantes. En segundo lugar, el punto final mínimo inmunizante del material de cepa E

formolizada resultó ser alrededor de 2,5 log. por debajo del correspondiente al material de cepa E activa (6). En tercer lugar, las reacciones retardadas ocurren en momentos y con un carácter tales que el mejor modo de explicarlas es a base de infección. Hasta la fecha, no ha sido posible poner fuera de duda la presencia de rickettsemia ni por inoculación directa de sangre en membranas de embrión, ni por alimentación continua de piojos con sangre de sujetos vacunados. Sin embargo, debe observarse que estos estudios se realizaron tan sólo con un pequeño número de voluntarios y sólo durante los primeros 10 días posteriores a la vacunación. A juzgar por los conocimientos actuales sobre reacciones retardadas, parece indicado repetir este trabajo dedicando particular atención al período en que ocurren las reacciones retardadas. Otros puntos en relación con la patogénesis son la posible persistencia de infección latente, que explicaría la larga duración de la inmunidad, y el mecanismo de reacciones inmediatas observado. Debe recordarse que las pruebas existentes sugieren que estas reacciones inmediatas, si bien inducidas por los efectos "tóxicos" de gran número de rickettsias vivas, no están influidas por inmunidad o por anticuerpos específicos (8).

El empleo de *R. prowazeki* viva en una población infectada por piojos, suscita asimismo el problema de la inocuidad indirecta, que puede dividirse en dos partes afines: 1)

posible propagación del agente por medio de piojos, y 2) si la propagación se produce, posible reversión al carácter virulento en el pase humano. Aunque los piojos pueden infectarse con cepa E experimentalmente y dar la impresión que sufren un curso normal de infección conducente a su muerte (3), hasta ahora no ha sido posible infectar piojos alimentándolos con sangre de personas vacunadas. Si bien este punto, como ya se ha sugerido anteriormente, merece ulterior estudio, parece improbable que los piojos puedan transmitir la infección de cepa E no modificada, debido a su gran dosis mínima infectante con respecto al ser humano. No obstante, este punto se presta a pruebas directas realizadas con piojos infectados experimentalmente. No existen datos en cuanto a la estabilidad del carácter avirulento de la cepa E durante el pase humano. Lo único que puede decirse es que la cepa parece ser excepcionalmente estable con respecto a las características mensurables en animales, durante más de 250 pases en huevos, 14 pases en ratas algodoneras y 3 en piojos (3). Además, el material de los primeros pases en España (cuyo nivel exacto se desconoce) indujeron reacciones en el hombre (2) comparables al parecer con las causadas por el material de los últimos pases en Estados Unidos y en Perú (7, 9). Por consiguiente, en esencia no parece probable que la cepa E tenga importantes posibilidades de riesgo indirecto, aunque, como ya se ha indicado, quizá convenga estudiar más a fondo la materia.

Las pruebas aquí presentadas con respecto a la eficacia de la vacuna de cepa E en la prevención del tifo aparecido en condiciones naturales, dejan mucho que desear. A pesar del extenso período de observación y de los esfuerzos verdaderamente tenaces para el descubrimiento de casos, el número de casos identificables de tifo fue desalentadoramente pequeño. En examen retrospectivo, parece que la decisión inicial de confiar enteramente en pruebas serológicas para el reconocimiento de casos, no fue acertada. Aunque en teoría resulte del todo factible, el hecho de llevar la

serología a la práctica en una población que cuenta con muchas personas naturalmente inmunes además de las vacunadas, ofrecía una base muy endeble para la diagnosis. En futuros estudios, la serología deberá acompañarse de esfuerzos encaminados a aislar el agente y de una mayor atención al cuadro clínico. Si bien los resultados obtenidos en el presente estudio son compatibles con la efectividad de la vacuna, difícilmente ofrecen la elocuente demostración prevista y en realidad carecen de importancia estadística. O sea, que este ensayo siguió la pauta de fracasos establecida por los pocos ensayos de campo realizados previamente con vacunas de tifo. Queda la esperanza de que futuras experiencias en medios epidémicos puedan completar las pruebas. Entretanto, la cuestión de la eficacia debe basarse principalmente en los muy convincentes resultados de las pruebas experimentales. Estos, unidos al bajo costo y sencillez inherentes al método inmunizador de una sola dosis, parecen justificar el uso futuro de la vacuna de cepa E en aquellas situaciones en que la erradicación de piojos no sea todavía factible y se considere que el tifo plantea un problema importante.

Las consecuencias epidemiológicas de las observaciones hechas en el Perú justifican un comentario final. Los resultados de la encuesta serológica anterior (10) indicaron con toda claridad que las infecciones por *R. prowazeki* eran mucho más numerosas que los casos reconocidos de tifo. Una posible explicación de este hecho ha sido simplemente la notoria escasez de notificaciones debida a la virtual ausencia de atención médica en buena parte de la región. Nuestras presentes observaciones sugieren que esto no ha sido un factor importante, ya que, a pesar de la continua e intensa investigación de casos, no encontramos más que un pequeño número de ellos; sin embargo, de la nueva encuesta hecha a fines de 1957 sobre personas originariamente no inmunes (y no vacunadas), obtuvimos pruebas de que ocurrieron de 13 a 51 infecciones, según los cálculos se basaran en casos e infecciones "definidos" o "posibles" durante el período de observación

de todos los casos que pudimos identificar. Así pues, debemos sacar en consecuencia que la mayoría de éstos fueron subclínicos o de carácter sumamente leve. Posibles explicaciones son: población resistente, cepas de baja virulencia o infección a edad temprana. El análisis de los casos definidos o probables de conversión serológica entre las personas originariamente no inmunes, pero no vacunadas, sometidas a sangría a fines de 1957, revela índices de edad de la conversión específica que, aunque varían irregularmente de un grupo de edad a otro (tal vez a causa de la pequeñez de las muestras en cada grupo de edad), son básicamente uniformes en todo el campo de edades estudiado. Por tanto, la distribución de infecciones según la edad de las personas que integran la población total de sujetos no inmunes sin vacunar, debe ser directamente proporcional a la distribución por edades de dicha población. Aplicando al sector de población no vacunada los índices de inmunidad específica según la edad, observados en 1953-54 (10), se puede calcular que, del total de no inmunes en este sector, el 30 % tiene menos de 5 años, el 56 % menos de 10, el 81 % menos de 20 y el 91 % menos de 30. Debe recordarse aquí que las infecciones clínicamente aparentes mostraron una pauta considerablemente opuesta en relación con la edad. Por consiguiente, parece muy probable que la infección a edad temprana sea un factor importante que contribuya a la frecuencia de infecciones no identificadas. Pero quedan otras posibilidades, como la resistencia del huésped basada en características genéticas y la relativa avirulencia de las cepas de *R. prowazeki* en circulación.

RESUMEN

Hemos examinado los esfuerzos realizados hasta ahora para evaluar la cepa E como agente vivo inmunizante del ser humano contra el tifo epidémico, así como el origen de

dicha cepa. Estudios serológicos y experimentos de prueba verificados en Estados Unidos, indican que la inmunidad resultante es firme, y dura 66 meses cuando menos. Las mismas pruebas, con el complemento de ensayos mucho más amplios llevados a cabo sobre el terreno en Perú, señalan que, si bien ocurren reacciones inmediatas (presuntamente tóxicas) y retardadas (presuntamente debidas a infección), las reacciones son claramente tolerables, y que se puede estimar en un 95 %, aproximadamente, la proporción de los vacunados no inmunes en quienes puede producirse con seguridad una respuesta serológica inmediata.

La observación durante tres años y medio de una población que comprendía sujetos vacunados, inoculados con placebo y grupos de control enumerados, aunque sin inocular, dio por resultado la identificación de un número, por desgracia muy escaso, de infecciones clínicamente manifiestas, (42 casos "definidos" y 18 "posibles") que, sin embargo, fueron alrededor de dos veces más frecuentes en los grupos no vacunados que en los vacunados.

El estudio de los sueros recogidos a fines de 1957 procedentes de sujetos no inmunes en 1953-54 y no vacunados, indica que, a pesar de no escatimarse ningún esfuerzo para descubrir casos de tifo, por cada caso identificado ocurrieron de 13 a 51 infecciones. Dado que en este caso difícilmente puede invocarse, como explicación, la escasa notificación, debemos sacar en consecuencia que, en el altiplano peruano, la mayoría de las infecciones son subclínicas y dan origen solamente a enfermedades sin importancia. Los datos existentes dan idea de que la infección a edad temprana constituye parte de la explicación de este fenómeno, pero también pueden contribuir al mismo la resistencia del huésped, determinada genéticamente, y la reducida virulencia del agente.

REFERENCIAS

- (1) Clavero, G., y Pérez Gallardo, F.: Estudio experimental de una cepa apatogénica e inmunizante de *Rickettsiae prowazeki*. Cepa E., *Rev. San. e Hig. Púb.*, 17:1-27, 1943.
- (2) Clavero, G., y Pérez Gallardo, F.: Estudios sobre la cepa E de *Rickettsiae prowazeki* viva en la inmunización humana, *Rev. San. e Hig. Púb.*, 18:1-16, 1944.
- (3) Pérez Gallardo, F., y Fox, J. P.: Infection

- and immunization of laboratory animals with *Rickettsia prowazeki* of reduced pathogenicity, strain E., *Am. Jour. Hyg.*, 48: 6-21, 1948.
- (4) Fox, J. P.: Immunization against epidemic typhus. A brief general review and a description of the status of living, avirulent *R. prowazeki* (strain E) as an immunizing agent, *Am. Jour. Trop. Med. & Hyg.*, 5: 464-479, 1956.
- (5) Nicolle, C.: Essai de vaccination préventive dans le typhus exanthématique, *Compt. Rend. Acad. Sc.*, 163:38, 1916.
- (6) Everitt, M. G.; Bhatt, P. N., y Fox, J. P.: Infection of man with avirulent rickettsiae of epidemic typhus (strain E), *Am. Jour. Hyg.*, 59:60-73, 1954.
- (7) Fox, J. P.; Everitt, M. G.; Robinson, T. A., y Conwell, D. P.: Immunization of man against epidemic typhus by infection with avirulent *Rickettsia prowazeki* (strain E). Observations as to post-vaccination reactions, the relation of serologic response to size and route of infecting dose, and the resistance to challenge with virulent typhus strains, *Am. Jour. Hyg.*, 59:74-88, 1954.
- (8) Fox, J. P.; Jordan, M. E.; Conwell, D. P., y Robinson, T. A.: Immunization of man against epidemic typhus by infection with avirulent *Rickettsia prowazeki* (strain E). II. The sero-immune state and resistance to virulent challenge two years after immunization and a note as to the nature of immediate post-vaccination reactions, *Am. Jour. Hyg.*, 61:174-182, 1955.
- (9) Fox, J. P.; Montoya, J. A.; Jordan, M. E., y Espinosa M., M.: Immunization of man against epidemic typhus by infection with avirulent *Rickettsia prowazeki* (strain E). III. The serologic response and occurrence of post-vaccination reactions in groups vaccinated under field conditions in Peru, *Am. Jour. Hyg.*, 61:183-196, 1955.
- (10) Montoya, J. A.; Jordan, M. E.; Kvamme, L.; Quirós S., C., y Fox, J. P.: A survey of sero-immunity against epidemic typhus among certain population groups in Peru, *Am. Jour. Hyg.*, 62:255-269, 1955.
- (11) Fox, J. P.; Jordan, M. E., y Gelfand, H. M.: Immunization of man against epidemic typhus by infection with avirulent *Rickettsia prowazeki* (strain E). IV. Persistence of immunity and a note as to differing complement-fixation antigen requirements in post-infection and post-vaccination sera, *Jour. Immun.*, 79:348-354, 1957.
- (12) Montoya O., J. A.; Jordan, M. E.; Fox, J. P., y Gelfand, H. M.: Immunizations against epidemic typhus with avirulent *R. prowazeki* (strain E). Recent observations with special reference to a field trial in Peru. Presentado en el VI Congreso Internacional de Medicina Tropical y Malaria, Lisboa, Portugal, sbre., 1958.
- (13) Jordan, M. E.; Fox, J. P., y Gelfand, H. M.: Datos inéditos.