

LOS METODOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO DE LA FIEBRE AMARILLA SELVÁTICA¹J. AUSTIN KERR, M.D.²

El estudio de la fiebre amarilla urbana, transmitida directamente de persona a persona por el mosquito *Aedes aegypti*, es relativamente sencillo si se compara con el estudio de la fiebre amarilla selvática, con su reservorio extrahumano del virus. Este estudio requiere casi media docena de disciplinas científicas en las que están incluidas todas las relativas al estudio de la fiebre amarilla urbana.

No sólo son necesarias varias disciplinas, cada una con su propio punto de vista, sino que en cada disciplina hay frecuentemente más de un punto de partida. Existe el aspecto de laboratorio, que tiende a ser más bien estéril si no cuenta con el estímulo continuo de las nuevas ideas y conceptos originados en el campo. "Una mano lava la otra y las dos lavan la cara", es decir, cada uno de los aspectos es esencial y ninguno por sí solo produciría un resultado plenamente satisfactorio.

Las Figs. 2, 3 y 4 presentan una ligera indicación de algunas de las complejidades de la fiebre amarilla selvática, y con sólo señalar el hecho de que un elemento del ciclo extrahumano, el mosquito, es bastante diferente en el Nuevo Mundo y en Africa, podemos comenzar a enumerar y discutir brevemente las diversas disciplinas científicas que se necesitan.

¹ Manuscrito recibido en julio de 1957.

² De la Fundación Rockefeller, asignado a la Oficina Sanitaria Panamericana.

1. VIROLOGIA

La lista comienza con la virología, porque el virus de la fiebre amarilla se ha descubierto en muchos otros lugares fuera de la circulación de la sangre y los órganos internos del hombre. En las Américas y en Africa se ha aislado en monos, y existen buenas razones para creer que si se hiciera una minuciosa investigación, se encontraría el virus en otros mamíferos y posiblemente en aves. Se han capturado artrópodos hematófagos silvestres y se han examinado detenidamente con miras a descubrir la presencia del virus de la fiebre amarilla, con el resultado de que hasta ahora se ha hallado que los mosquitos representan el único grupo que alberga el virus en la naturaleza en cantidades significativas.

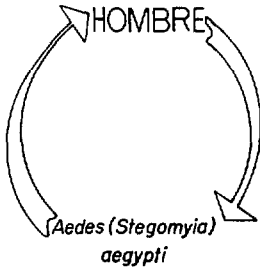
El aislamiento del virus de la fiebre amarilla en el hombre es un procedimiento de diagnóstico, así como de investigación.

Una vez que se ha aislado una cepa de virus, el virólogo puede someterla a numerosas pruebas de laboratorio. Es necesario examinar tanto las diferencias como las semejanzas antigénicas. Una de las primeras fue la demostración de que, antigénicamente, no se puede distinguir entre el virus de la fiebre amarilla de Sudamérica y el de Africa Occidental. Esto quedó demostrado hace casi 30 años y desde entonces no se han observado diferencias apreciables.

Se estudiaron los tropismos. Max Theiler hizo el asombroso descubrimiento de que un

virus que en el hombre parecía preferir el hígado, el corazón y los riñones, evitaba esos órganos en el ratón y en su lugar atacaba el cerebro, matando al huésped al causarle encefalitis.

FIG. 1.—Ciclo de transmisión de la fiebre amarilla urbana.



Africa y las Américas, trópico y subtropico, extendiéndose en el pasado a las zonas templadas, v.g. Nueva York, Boston y Buenos Aires.

El estudio de los tropismos resultó muy interesante por sí mismo, pero además condujo, de modo bastante directo, a algo mucho más importante: la atenuación del virus de modo que pudiera utilizarse como vacuna. La vacuna 17D contra la fiebre amarilla consiste en el virus vivo conservado por desecación al vacío, en estado de congelación, e hidratándolo de nuevo antes de usar la vacuna.

Los estudios virológicos del virus de la fiebre amarilla han resultado muy fructíferos, además de haber servido de estímulo y modelo para un estudio equivalente de otros virus.

Casals acuñó recientemente la palabra "arborvirus" para indicar un virus animal transmitido por artrópodos. El de la fiebre amarilla es uno de esos virus, quizás el más importante de todos; usaremos, pues, el término libremente.

Con respecto a otros virus fuera del de la fiebre amarilla y del dengue, el término tiene la gran ventaja de evitar el uso de las palabras "neurotrópico" y "encefalitis". El virus de la fiebre amarilla no es activamente neurotrópico en la naturaleza, aunque en el laboratorio se hace uso de esta característica

fundamental al inocular el material de prueba en el cerebro de los ratones albinos.

2. ENTOMOLOGIA

La entomología ocupa el segundo lugar en esta lista, debido a que la primera demostración, hecha en Cuba, de que la fiebre amarilla es producida por un virus, fue acompañada de la prueba de que el virus era transmitido normalmente por la picadura de un mosquito, conocido ahora bajo la denominación de *Aedes (Stegomyia) aegypti*.

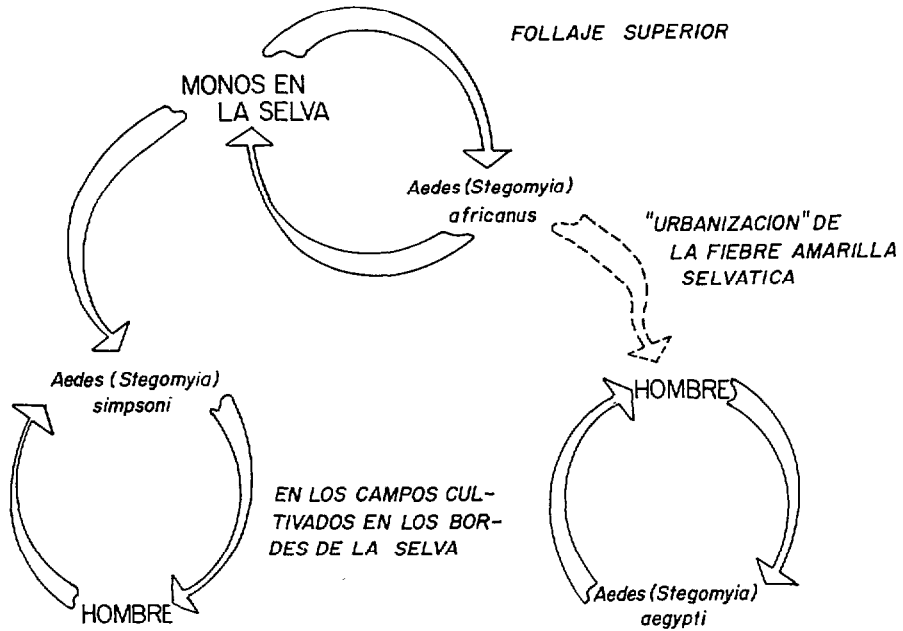
Así pues, la entomología experimental desempeñó un importante papel al comenzarse los estudios sobre la fiebre amarilla. Simultáneamente, se realizaron estudios taxonómicos que al principio se limitaron a la identificación del mosquito conocido ahora como *Aedes (Stegomyia) aegypti*. Obsérvese que la palabra "*Stegomyia*" indica un subgénero del muy extenso género *Aedes*. El *Stegomyia* es un subgénero del Viejo Mundo, cuyo único representante en el Nuevo Mundo es el *Aedes aegypti*, el cosmopolita de los trópicos. Los trópicos del Viejo Mundo están llenos de *Stegomyia*, del cual volveremos a hablar más adelante.

Era natural que tan pronto se identificó al *Aedes aegypti* como el vector de la clásica fiebre amarilla urbana, se estudiaran sus lugares preferidos de reproducción, su abundancia estacional y otras, sus hábitos de picar—al hombre o a los animales, de día o de noche—, y su capacidad de vuelo tanto en latitud como en altitud.

Aun antes de que se hubiera identificado la fiebre amarilla selvática se hicieron estudios similares de los posibles vectores de la fiebre amarilla, y la taxonomía adquirió considerable importancia. Resultó imprescindible dar nombres precisos a cada especie de mosquito con que se hacían experimentos, de modo que todo el mundo pudiera saber con exactitud cuál era la especie de mosquito relacionada con una observación determinada.

En el estudio de la fiebre amarilla selvática, la ecología de los mosquitos adquirió

FIG. 2.—Ciclo de transmisión de la fiebre amarilla selvática en el Africa tropical.



gran importancia. Recuérdese que la ecología es el estudio de la relación entre un organismo y su medio. El organismo puede ser una planta o un animal, una bacteria o un secoya, un virus o un hombre. La ecología es una disciplina científica por derecho propio; constituye también un punto de vista que debe tenerse en cuenta en los estudios de campo y de laboratorio sobre la fiebre amarilla selvática.

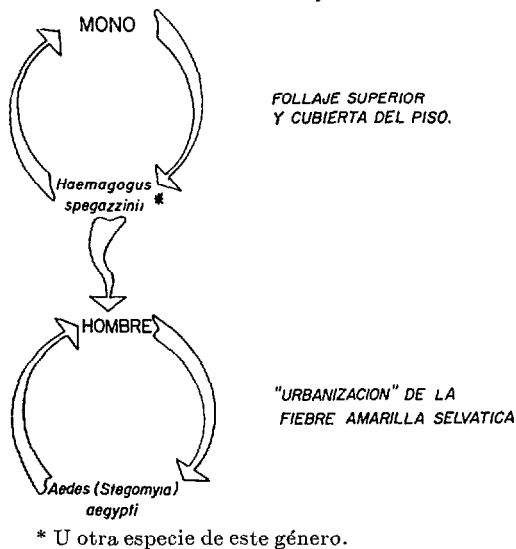
Hablando de ecología, se ha extendido la fábula de que para contraer la fiebre amarilla selvática causada por un *Haemagogus* o mosquito azul, hay que talar un árbol en el bosque. A esto se ha llamado "complejo de leñador". Si bien es cierto que en general el mosquito *Haemagogus* prefiere el follaje más alto, se debe recordar que también desciende a ras del suelo siempre que hay un claro, una carretera o un arroyo. Más de una persona ha contraído fiebre amarilla mientras permanecía sentada a la sombra de un árbol al borde del camino, esperando la reparación de un neumático de automóvil.

3. LA INMUNOLOGÍA (y su corolario, LA SEROLOGÍA)

Apenas se hubo aislado el virus de la fiebre amarilla en el mono rhesus y se confirmó su transmisibilidad por medio del *Aedes aegypti*, los investigadores de laboratorio comenzaron a pensar en el desarrollo de pruebas serológicas para su uso en estudios inmunológicos de varias clases.

La primera prueba que se adoptó fue la muy complicada y costosa prueba de *protección del mono rhesus*. Para realizarla se inoculaba en la cavidad peritoneal de un mono normal una cantidad determinada—con frecuencia 5 c.c.—de suero de prueba, seguida una hora después por la inoculación subcutánea de una pequeña cantidad de suero de monos rhesus altamente infecciosos. Si el suero de prueba contenía anticuerpos de fiebre amarilla "protegía" al mono contra la muerte. Difícil como era el procedimiento, proporcionó valiosa información que no se podía obtener entonces de otra manera.

FIG. 3.—Ciclo de transmisión de la fiebre amarilla selvática en la América tropical.



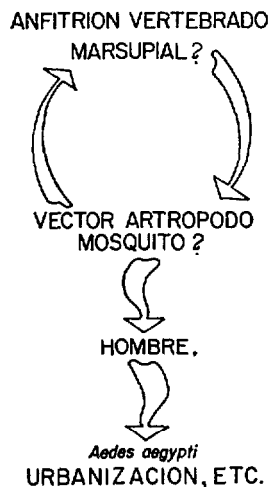
Se aplicó la prueba de fijación del complemento usando como antígeno los tejidos y suero sanguíneo de monos. Esa prueba tenía el defecto de que los anticuerpos fijadores del complemento sólo se pueden apreciar en el suero del hombre por un período aproximado de un año después de la infección. Pronto se adoptó la prueba de protección al ratón, en forma intercerebral, por Theiler, y después en su forma intraperitoneal, por Sawyer. Toda vez que el suero y el virus se mezclan y por lo general se incuban antes de la inoculación, la prueba se denomina con mayor propiedad prueba de neutralización. El anticuerpo utilizado es un anticuerpo neutralizador que usualmente se mantiene presente en cantidades demostrables después de un ataque de fiebre amarilla, durante muchos años, si no durante toda la vida del individuo.

La prueba de neutralización del ratón, para fiebre amarilla, se puede modificar de varias maneras, pero hay que sacrificar la especificidad en favor de la sensibilidad; el propósito de la prueba determinará cuál de los dos objetivos se persigue.

La prueba serológica más importante es la de inhibición de la hemaglutinación (IH) modelada en la bien conocida prueba de Hirst para la influenza. Sabin demostró la presencia de hemaglutininas en asociación con "arbovirus", pero Casals encontró que sus antígenos de cerebro de ratón, extraídos con éter-acetona, son una excelente fuente de hemaglutininas estables. Esto ha contribuido a facilitar el estudio del problema, complicado por la presencia en el cerebro y en el suero de altas concentraciones de lípidos que inhiben la aglutinación de las células rojas. Cuando se eliminan esas sustancias destructoras, la prueba se desenvuelve muy bien y representa una llave que abre un caudal de hechos nuevos, no sólo en relación con el virus de la fiebre amarilla, sino con los "arbovirus" en general.

En los Laboratorios de Virus de la Fundación Rockefeller, de la ciudad de Nueva York, Casals examinó un gran número de "arbovirus" en cuanto a su capacidad para producir hemaglutininas, encontrando que aproximadamente la mitad de los virus tienen esa característica.

FIG. 4.—Ciclo de transmisión de la fiebre amarilla no urbana en lugares en que no hay monos o hay pocos.



El reservorio extrahumano del virus de la fiebre amarilla parece en estos lugares "extra primate".

Casals dividió en tres grupos los virus que producen hemaglutininas: A, B, C, y hay, además, otros no agrupados.

Grupo A: Comprende los virus de la encefalitis equina del Este, del Oeste, y de Venezuela, y el virus Mayaro de las Américas; así como los virus Semliki Forest, Sindbis y Chinkungunya, de Africa.

Grupo B: Comprende los virus de la fiebre amarilla, el dengue (por lo menos de dos tipos inmunológicos diferentes), las encefalitis San Luis, Japonesa B., del valle Murray, primavero-estival de Rusia, el "louping" de las ovejas, y las fiebres del Nilo Occidental e Ilheus, así como otros virus de Africa y las Américas.

Grupo C: Comprende: tres virus aislados en el Laboratorio de virus de Belén, de material recogido en la región forestal lluviosa del Amazonas.

Los virus "no agrupados" son los de la fiebre papataci (tipos Nápoles y Sicilia), fiebre del valle Rift y virus Bunyamwera. Aunque esos virus producen hemaglutininas, ninguno de ellos parece tener relación antigénica con los otros virus conocidos. Mientras no se haya demostrado la relación de un "arborvirus" por lo menos con otros dos virus, no resulta práctico asignarlo a un "Grupo".

Los virus comprendidos en cada uno de los grupos correspondientes a las letras citadas no tienen relación antigénica demostrable con ninguno de los virus de los otros grupos. Entre los virus del grupo A existe un ligero grado de cruzamiento, mientras que entre los miembros del grupo B existe un alto grado de cruzamiento, a veces tan acentuado que no se puede utilizar la prueba IH (inhibición de la hemaglutinación) para identificar el virus, sino solamente su grupo. En esos casos se recurre a la prueba de fijación del complemento o a la de neutralización, ajustando esta última de modo que se obtenga la máxima especificidad.

Por medio de la prueba IH se ha podido comprobar la existencia, hasta entonces sólo sospechada, de la relación entre grupos. La antigua cuestión referente a si el dengue tiene alguna relación con la fiebre amarilla

ha sido ahora parcialmente contestada. Los dos virus están relacionados, pero la inmunidad al dengue no previene la infección por el virus de la fiebre amarilla. Se han planteado nuevas preguntas, entre ellas ésta: ¿existe el dengue selvático? No se conoce aún la respuesta.

4. HISTOPATOLOGIA

La fiebre amarilla produce lesiones características en el hígado de las personas que mueren de esa enfermedad, pero es esencial el examen microscópico de secciones coloreadas de hígado.*

Los descubrimientos macroscópicos de la autopsia por regla general permiten establecer un diagnóstico presunto de fiebre amarilla, pero existen otras condiciones que pueden simular dicha enfermedad.

El hecho de que las lesiones hepáticas del hombre sean tan características constituye la base científica central de todo el proceso de la viscerotomía.

La viscerotomía consiste en la recolección habitual de especímenes de hígado de todas las personas que mueren de una enfermedad que dura diez días o menos. El término proviene del nombre "viscerótomo" dado por el difunto Dr. E. R. Rickerd, de la Fundación Rockefeller, al instrumento que inventó para la rápida remoción de un pedazo de hígado de los cadáveres, por personas no profesionales. Un médico no necesita un viscerótomo; puede usar escalpelo y fórceps.

* Se observan: necrosis y necrobiosis de las células hepáticas, con desorganización de las columnas, pero sin colapso de los lobulillos hepáticos. La necrosis es más intensa en las zonas medias de los lobulillos, pero puede atacar también la zona periférica y central, dejando siempre algunas células intactas alrededor de la vena central y en la periferia. La necrosis es salpicada y no confluyente. Entre las células necróticas se encuentran algunas hialinas y acidófilas, con núcleo picnótico, o acidófilo o ausente, que constituyen los cuerpos de Councilman, cuya distribución es característica de la fiebre amarilla, mas no su presencia. Las inclusiones intranucleares no se pueden observar en material humano fijado con formalina.

La información proporcionada por la viscerotomía respecto a cuándo y dónde causaba víctimas la fiebre amarilla desconcertó frecuentemente a los médicos de las colectividades. Lo que es más importante aún, la viscerotomía se puede utilizar perfectamente allí donde no se cuenta con médicos en extensas áreas.

A partir de 1930, en Sudamérica se han recogido aproximadamente medio millón de especímenes de hígado humano, de los cuales posiblemente 450.000 correspondían al Brasil y el resto a Colombia, Bolivia, Venezuela, Perú y Ecuador. Se diagnosticó fiebre amarilla en 3.000 de esos especímenes. La información así adquirida sobre la fiebre amarilla selvática es de incalculable valor. Se ha descrito gráficamente el paso de tres grandes epidemias de fiebre amarilla selvática a través del Brasil central e igualmente la latencia del virus en Amazonia.

En Colombia la viscerotomía ha revelado un cuadro diferente: la reaparición del virus, a intervalos de tres a cinco años, en las laderas que descienden al valle del río Magdalena, mientras que rara vez se manifiesta en las riberas del mismo río.

La histopatología se ha usado de otra manera desde 1948, en Centro América, para advertir la propagación de la fiebre selvática hacia el Norte, desde Panamá. El virus de la fiebre amarilla produce lesiones características en el hígado de los monos araguatos (*Alouatta*) y de los monos araña (*Ateles*).

Se emprendió la búsqueda de monos muertos, y cuando se encontraba alguno, se extraía allí mismo un pedazo del hígado, para conservarlo en formalina. A veces la degeneración postmortem inutilizaba el espécimen, pero la suma total de información obtenida con este procedimiento relativamente sencillo, ha permitido seguir la propagación de la ola epidémica en lugares donde no se descubrieron casos humanos.

5. LA MEDICINA CLINICA

El diagnóstico clínico de la fiebre amarilla tiene relativamente poca importancia para

localizar o seguir una epidemia de fiebre amarilla selvática, debido al gran margen de error que puede haber. Los casos leves de fiebre amarilla no se pueden diagnosticar con exactitud sin recurrir a las pruebas de laboratorio, que son especializadas y requieren tiempo. Por otra parte, los casos mortales, con sus tres síntomas clásicos, a veces han sido diagnosticados erróneamente por el médico que los examinó, sencillamente porque no investigó la posibilidad de fiebre amarilla.

Otras condiciones pueden simular muy estrechamente la fiebre amarilla; una de ellas es la "atrofia amarilla aguda" del hígado, producida por un ataque fulminante de hepatitis viral. Así pues, se puede diagnosticar la fiebre amarilla en lugares y épocas en que no ocurren casos. El diagnóstico clínico, en realidad, tiene que estar confirmado por el diagnóstico de laboratorio: examen del hígado en los casos mortales, aislamiento del virus, o adecuadas pruebas serológicas.

En este punto es oportuna una pequeña digresión. Se puede proporcionar protección completa contra la fiebre amarilla a la población urbana mediante la erradicación del mosquito *Aedes aegypti* de las ciudades, pueblos, aldeas y aun viviendas rurales aisladas. No sucede lo mismo con los habitantes de las regiones forestales en que hay fiebre amarilla selvática. Los mosquitos de la selva, que se reproducen en los huecos de los troncos y en las ramas de los árboles, no pueden ser sometidos a control. Ahora bien, cabe proteger a la población por medio de la vacuna contra la fiebre amarilla. La vacuna es muy buena, pero han continuado ocurriendo defunciones por fiebre amarilla en áreas en que se había llevado a cabo una extensa vacunación, por la sencilla razón de que no se ha encontrado la manera de inducir a todo el mundo a que se vacune. Esto sucede aun con los residentes de las zonas afectadas, para no citar a las personas no inmunes que entran en esas áreas a trabajar o a explorar los recursos naturales.

6. ESTUDIOS SOBRE MAMÍFEROS

Hay la tendencia a no prestar la debida atención a los animales de laboratorio, olvidando que el empleo de esos animales supone cierto conocimiento de la ciencia de los mamíferos, aunque sólo sea en lo que se refiere a la cría de los animales en los aspectos especializados de laboratorio. En la práctica esta ciencia trata de los mamíferos silvestres, que no han sido domesticados o ni siquiera adaptados a uso de laboratorio.

Poco después de haberse demostrado la susceptibilidad del mono rhesus al virus de la fiebre amarilla, se realizaron estudios en monos africanos. Las infecciones que en ellos se desarrollaron no fueron mortales. Se estudiaron entonces los primates del Nuevo Mundo, que mostraron una susceptibilidad uniforme. Se vio claramente que todos los primates son susceptibles a la infección de la fiebre amarilla, pero que la muerte ocurre sólo en muy pocas especies.

Se estudiaron bastante ampliamente los mamíferos de las áreas de fiebre amarilla selvática en lo que se refiere a la susceptibilidad al virus de la fiebre amarilla. Salvo en los monos, los resultados han sido negativos, con muy contadas excepciones. Algunos marsupiales sudamericanos han resultado ser susceptibles a la infección en un grado suficiente para infectar a los mosquitos normales que se alimentaron en ellos. Algunas especies diseminadas de roedores parecen también ser susceptibles.

Los estudios de susceptibilidad son propios del laboratorio. Estos se deben completar con otros de campo, especialmente sobre los hábitos de las especies afectadas, a fin de averiguar la posibilidad de que el mamífero susceptible entre en contacto con el vector conocido del virus. Esos estudios de campo son de naturaleza esencialmente ecológica.

Además, los estudios taxonómicos han sido muy necesarios a fin de lograr que los resultados comunicados puedan ser entendidos fácilmente por los demás investigadores.

Debe hacerse una advertencia con respecto a las figuras que acompañan este artículo. Presentan lo que actualmente se conoce sobre el reservorio extrahumano de fiebre amarilla, pero no constituyen una solución al problema.

En realidad, parece cierto que el problema del reservorio extrahumano de la fiebre amarilla encierra algo más que "monos y mosquitos hemagógos".

7. LA ORNITOLOGIA

Al contrario de lo que ha sucedido con los mamíferos, no se ha demostrado que las aves desempeñen papel alguno en la epidemiología de la fiebre amarilla selvática. En realidad, no hay una sola especie de aves de la que se haya demostrado que es susceptible al virus de la fiebre amarilla, salvo en su estado embrionario, o muy al principio de la vida postembrionaria.

Sin embargo, existe un número de razones bien fundadas para estudiar a las aves en relación con la fiebre amarilla selvática. La primera es la abundancia de ellas en las selvas tropicales, en las que se sabe que existe el virus de la fiebre amarilla. No sólo abundan las aves sino que son de una gran variedad. Los estudios de susceptibilidad que se han podido hacer—las aves silvestres son sumamente frágiles para el laboratorio—no han sido concluyentes, aun cuando todos han resultado negativos.

Más interesantes aún son los descubrimientos positivos que señalan la relación de las aves con la epidemiología de enfermedades tales como las encefalitis equina del Este y del Oeste, San Luis, Japonesa B, y fiebre del Nilo Occidental.

Otra razón que se debe tener en cuenta es que, dado el pequeño tamaño de los pájaros, su promedio de duración de vida es sólo de uno a dos años; por lo tanto, la población se renueva tan rápidamente que hay una provisión constante de elementos susceptibles, tan necesarios para que el virus prospere.

La ornitología es una disciplina hermana del estudio de los mamíferos, y los mismos puntos de vista se aplican a ambas. La susceptibilidad al virus debe quedar establecida o rechazada en el laboratorio. Es necesario estudiar en el campo la relación entre las aves en general, y en particular su relación con sus ectoparásitos hematófagos. Esto es importante debido a que los pájaros tienen un buen número de esos parásitos que jamás pican al hombre. Los estudios taxonómicos de las aves son mucho más completos que los de los mamíferos. A la vasta mayoría de pájaros, especialmente a los que abundan, se les han dado nombres que son aceptados generalmente y no resulta muy difícil identificar las especies que se recolectan.

8. LA EPIDEMIOLOGIA

Para mayor conveniencia la epidemiología se enumera como disciplina aparte. Requiere el análisis de todos los datos disponibles a fin de formular teorías e hipótesis que es necesario comprobar. Esos análisis y síntesis representan un proceso continuo, y cuando se usa la palabra epidemiología se refiere principalmente al hombre.

Cuando se concentra la atención en el virus de la fiebre amarilla, la expresión apropiada es la de ecología del virus.

Existe aún otro punto de vista: el de los vertebrados de sangre caliente, o vertebrados que son parte del reservorio extrahumano del virus de la fiebre amarilla. El término adecuado, entonces, es el de epizootiología. La fiebre amarilla selvática es, desde luego, una zoonosis—una enfermedad que se transmite del animal al hombre.

Citaremos algunos conceptos que ahora ya resultan bastante claros.

En primer término está el sencillo ciclo de transmisión hombre-*Aedes aegypti*-hombre que es el de la fiebre amarilla urbana. Esa fiebre amarilla es *endémica* si se encuentra continuamente presente en un área o población determinadas. Es *epidémica* si sólo se presenta en una población a intervalos.

Cabe hacer una distinción semejante con respecto a la fiebre amarilla selvática. La enfermedad es claramente *epizootica* en aquellos lugares en que el virus se encuentra presente sólo durante unas semanas, a intervalos de cinco a diez años. Por analogía, un área *enzoótica* es aquella región forestal en la cual el virus se halla constantemente presente. Se considera un área de esta clase la del cultivo de cacao, cerca del pequeño puerto de Ilheus, Brasil, en el Atlántico. Esta área es relativamente pequeña, y se sospecha que la inmensa región enzoótica de la cuenca amazónica está compuesta de un gran número de "unidades Ilheus", en cada una de las cuales se encuentra siempre presente, en alguna parte, el virus de la fiebre amarilla.

Hasta aquí, las teorías sobre la epidemiología, la ecología y la epizootiología de la fiebre amarilla selvática en las Américas.

Demos ahora una ojeada a los trópicos en general. Se ha dicho que el *Stegomyia* es el subgénero de *Aedes* al que pertenece el *aegypti* y que hay muchas especies de *Stegomyia* en las regiones tropicales de África, Asia, Australasia y las Islas del Pacífico, quizás unas 30 ó 40. Se ha examinado un gran número de esas especies en cuanto a su capacidad para transmitir con su picadura el virus de la fiebre amarilla. Se ha encontrado que cada especie examinada es un posible vector del virus. Esto nos obliga a establecer la conclusión de que todas las especies del subgénero *Stegomyia* se deben considerar como posibles vectores del virus mientras no se demuestre lo contrario. En la Fig. 2 se señala la importancia del *Stegomyia* en África.

En vista de la abundancia de esos variados *Stegomyias* en los trópicos del Viejo Mundo, se debe establecer la conclusión de que el virus de la fiebre amarilla causaría muy graves perjuicios si alguna vez se introdujera en esas regiones.

El gran enigma es: ¿Por qué la fiebre amarilla no ha llegado al Oriente, ni siquiera a la costa del África Oriental?

Otra pregunta que actualmente queda sin

contestación es la siguiente: ¿Dónde se originó la fiebre amarilla, en Africa o en el Nuevo Mundo? Hace treinta años se creía conocer la respuesta: en Africa. Hoy, en honor a la verdad, debemos admitir que no lo sabemos.

METHODS USED IN STUDY OF JUNGLE YELLOW FEVER (*Summary*)

The scientific disciplines that are required for the study of jungle yellow fever are described and discussed, and the need for both the field and the laboratory viewpoint stressed. Jungle yellow fever has a complex epidemiology and at least eight scientific disciplines are importantly involved in the study. These are: virology; entomology; immunology, especially serology; histopathology; clinical medicine; mammalogy; ornithology; and epidemiology. In addition, the ecological viewpoint must pervade the investigations; and the contributions of three public health administration operations must not be

forgotten. The first is viscerotomy, which is the systematic collection of liver specimens, from persons dying of illnesses that last ten days or less, for microscopic study. The second is the yellow fever vaccination service; and the third and oldest is the control and eradication of *Aedes aegypti*.

The article ends with two questions that it is not possible to answer at the present time: "Why has yellow fever not reached the Orient" and "Where did yellow fever originate—in Africa or in the New World".