

ESTUDIO VIROLOGICO DE CASOS MORTALES DE POLIOMELITIS PARALITICA ¹

I. Aislamiento de Poliovirus en Material de Autopsia

EDUARDO CELIZ G.² y NELLY NICHOS³

INTRODUCCION

En 1909, Lansteiner y Popper (2), (31), demostraron la presencia del virus de la poliomiélitis en la médula; Howe (51) en 1939, aisló la cepa Tipo I (Brunhilde) de la médula de un chimpancé; Armstrong (51) en 1938 aisló la cepa Tipo II (Lansing) de la médula de un caso humano fatal y Hessel (51) en 1937, aisló la cepa Tipo III (León) del cerebro y médula de un caso humano. Posteriormente otros investigadores establecieron su presencia en diferentes órganos de casos humanos fatales, como bazo (2), (6); corazón (10), (34), (39), (42), cerebro (2), (15), (23), (44), ganglio (6), (7), (8), (10), (37), (44), (53), intestino delgado, (7), (8), (47); intestino grueso (2), (47); hígado (2), (6), (40), músculo, (32), (34) y en la sangre (8), (24), (26), (27), (41), (44).

Nosotros hemos efectuado el estudio virológico de 6 casos fatales de poliomiélitis ocurridos en el Hospital del Niño (Lima-Perú).

¹ Trabajo realizado en el Laboratorio de Virología de la Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Medicina de la U. N. M. S. M., siendo Jefe del Laboratorio de Virología el Dr. Manuel Cuadra, a quien agradecemos su valiosa dirección. Fue presentado en el III Congreso Peruano de Anatomía Patológica, Lima-Perú.

² Ex-Jefe Instructor Dedicación Exclusiva de la Cátedra de Bacteriología. Facultad de Medicina de la U. N. M. S. M.

³ Bióloga de la Cátedra de Medicina Tropical. Facultad de Medicina, U. N. M. S. M.

MATERIAL Y METODOS

Resumen de las Historias Clínicas.

CASO 1

Historia. 184125-Libro. XII. La niña D. A. C. R. de un año y 24 días de edad, nacida en los Angeles (California-EE.UU) y procedente de Jesús María (Lima, Perú), ingresó al Hospital del Niño el 9 de abril de 1966 a las 11.15 a.m. y falleció el mismo día a las 5 p.m. Una semana antes presentó un proceso gripal con abundante secreción y congestión nasal; curó. Estuvo asintomática 4 días. El día 9-IV-66, bruscamente a las 8.30 am., después del desayuno tuvo estornudos, llanto continuo, palidez, vómitos y dificultad respiratoria. Fué llevada al Hospital del Niño, presentando abundantes secreciones bronquiales y tos productiva. Es colocada en el pulmón de acero y recibió oxígeno, pero 5 horas, 30 minutos más tarde fallece con abundantes secreciones bronquiales y cianótica. Recibió vacuna antipolio 4 dosis, dos Tipo Salk en los EE.UU de Norte América, a los 3 meses y a los 4 meses de edad; luego dos dosis de vacuna oral antipolio Tipo Sabin en Lima (Perú) el día 23-I-66 y el 20-III-66.

Al examen clínico, enferma disneica, con abundantes secreciones bronquiales, cianótica é intranquila, faringe y amígdalas discretamente congestionadas, respiración irregular con marcado tiraje subcostal, taquicardia, sensorio comprometido. No puede sentarse. Miembros superiores: mueve manos y dedos, motilidad pasiva aumentada, tono muscular abolido, fuerza muscular abolido, sensibilidad no se precisa. Miembros inferiores: motilidad activa, abolido, motilidad pasiva aumentada, tono muscular abolido, sensibilidad no se precisa. Los reflejos fotomotor perezoso, deglución abolido, reflejo plantar positivo.

Diagnóstico Clínico. Cuadriplejía flácida, más compromiso de la musculatura respiratoria. Broncooplejía, más compromiso de la musculatura de la deglución.

Autopsia. 7393. Realizada el día 10-IV-66. Macroscópicamente, gran congestión de la sustancia gris de la médula, aumento de peso de la masa encefálica.

Diagnóstico anátomo-patológico. No hubo diagnóstico definido.

CASO 2

Historia. 184200-Libro. XV. La niña V. A. H. de 2 años y 18 días de edad, procedente de la Victoria (Lima-Perú), ingresó al Hospital del Niño, con un cuadro compatible con Poliomiélitis paralítica, el 29-V-66 y falleció el 1-VI-66, a las 8.30 pm. Recibió vacuna oral antipolio, la primera dosis el 23-I-66 y la segunda dosis el 20-III-66.

Diagnóstico Clínico. Poliomiélitis. Forma Espinal Alta.

Autopsia. 7434. Efectuada el día 2-VI-66 a las 10.30 am.

Diagnóstico anátomo-patológico. Poliomiélitis.

CASO 3

Historia. 730830. La niña R. M. F. de 2 años de edad, procedente de Salamanca de Monterrico (Lima-Perú) ingresó al Hospital del Niño, con cuadro clínico compatible con poliomiélitis paralítica el día 20-VI-66 a las 8.30 am. y fallece el mismo día a las 9 am. Recibió una dosis de vacuna oral antipoliomielítica, el 23-I-66.

Diagnóstico Clínico. Poliomiélitis.

Autopsia. 7443. Efectuada el día 20-VI-66 a las 11 am.

Diagnóstico anátomo-patológico. Mielitis aguda.

CASO 4

Historia. 184426, Libro. XX. El niño M. I. P. de 10 meses de edad, procedente de Chimbote (Perú), ingresó al Hospital el día 13-VII-66, a las 10.30 am, falleció el mismo día a las 6 pm. Su enfermedad se inicia el 28-VI-66 con estornudos, catarro, fiebre, tos, ronquera anorexia, mal estado general. El día 9-VII-66, presenta convulsiones clónicas, vómitos alimenticios y estreñimiento, nistagmus, asimetría facial. El día 12-VII-66, dificultad para movilizar los miembros superiores, sensorio comprometido. Recibió una dosis de vacuna oral antipolio Tipo Sabin el 23-I-66.

Al examen clínico (13-VII-66) los miembros superiores e inferiores presentan motilidad activa abolida, pasiva aumentada.

Diagnóstico Clínico. Cuadriplejía flácida, más parálisis facial derecha. Compromiso del sensorio, dificultad para deglutir.

Autopsia. 7457. Efectuada el 14-VII-66 a las 10 am.

Diagnóstico anátomo-patológico. No hubo diagnóstico definido.

CASO 5

Historia. 188447-Libro. XXX. La niña R. T. A. de un año, 8 meses y 3 días de edad, procedente de Villa María (Lima-Perú), ingresó al Hospital con cuadro clínico compatible con poliomielitis paralítica el día 10-XI-66 a las 5.30 pm. y falleció el día 11-XI-66 a las 9.05 am. Recibió vacuna oral antipoliomielitis tipo Sabin, la primera dosis en Marzo y la segunda dosis en Abril.

Diagnóstico Clínico. Poliomielitis forma espinal alta. Cuadriplejía, con compromiso de los músculos respiratorios.

Autopsia. 7517. Se efectuó el día 11-XI-66.

Diagnóstico anátomo-patológico. Poliomielitis-Bronconeumonía.

CASO 6

Historia. 184848-Libro. XXX. La niña G. H. de 6 años y 10 días de edad, procedente de Lima (Perú), ingresó al Hospital con cuadro clínico compatible con poliomielitis paralítica, el día 12-VII-66 y falleció el día 14-XII-66 a las 6.40 p.m. Recibió vacuna oral antipolio, la primera dosis el 23-I-66 y la segunda dosis el 20-III-66.

Diagnóstico Clínico. Poliomielitis. Paraplejía flácida.

Autopsia. 7534. Realizada el día 15-XII-66.

Diagnóstico anátomo-patológico. Poliomielitis-Bronconeumonía.

MUESTRAS

Durante las autopsias se tomaron muestras de diferentes órganos (Ver Cuadro. 2). Todas las muestras fueron tomadas individualmente en frascos de vidrio de boca ancha con tapa de rosca, estériles. Inmediatamente de tomadas, eran guardadas en refrigeración mientras duraba la autopsia; todas las muestras eran transportadas al laboratorio en una termo con hielo.

Las muestras fueron procesadas de acuerdo al método utilizado en otras oportunidades (11), (12), (13), con la única variante que eran trituradas en morteros de loza, usando arena como abrasivo. Las cepas de células utilizadas fueron Hela, Av3, KB (11), (12), (13) y riñón humano primario (14). Los medios nutritivos utilizados, fueron los ya empleados en otras ocasiones (11), (12), (13), (14).

Los virus aislados fueron tipificados utilizando el test de neutralización (11), y se efectuaron tantas pruebas de neutralización como mues-

tras positivas se obtuvo en cada caso. Se utilizó para la tipificación de las cepas aisladas, suero antipoliomielítico preparado por el "Institut Seroherapique et Vaccinal" Suisse-Berne, que recibimos en calidad de obsequio.

RESULTADOS

A. *Datos Generales de los Pacientes Estudiados.*

Como observamos en el Cuadro 1, se completó el estudio virológico de 6 pacientes que fallecieron con cuadro clínico compatible con poliomielitis y con diagnóstico anátomo-patológico de poliomielitis en el caso 2; Mielitis Aguda en el caso 3; Poliomielitis y Bronconeumonía en los casos 5 y 6, y no hubo diagnóstico definido en los casos 1 y 4. Creemos muy importante hacer notar que los pacientes recibieron vacuna oral Tipo Sabin. (Ver Cuadro 1), el caso 1, además recibió vacuna antipolio Tipo Salk.

B. *Muestras Tomadas y Resultados Obtenidos*

Los 6 casos fueron autopsiados (Cuadro 2) y en uno se obtuvo muestra de heces. En los 6 casos se tomó muestra de médula, la cual fue positiva en todos, habiendo aislado en los casos 2, 3, 5 y 6, poliovirus Tipo I; en el caso 1, poliovirus Tipo II, y en el caso 4, poliovirus Tipo III; dichos encuentros están de acuerdo con los resultados de otros investigadores (2), (4), (7), (8), (15), (16), (23), (25), (29), (30), (31), (34), (36), (38), (43), (44), (47), (48), (50), (52), (53).

En las muestras de ganglio mesentérico se aisló poliovirus Tipo I, en los casos 2, 5 y 6; poliovirus Tipo III, en el caso 4, negativo en el caso 1 y no fue tomada esta muestra en el caso 3; nuestros hallazgos concuerdan con trabajos publicados en la literatura (6), (7), (8), (10), (37), (44), (53).

En las muestras de intestino grueso de los casos 2 y 6 se aisló poliovirus Tipo I; del caso 1 poliovirus Tipo II; del caso 4, poliovirus Tipo III; el caso 5 fue negativo y en el caso 3 no fue posible tomar esta muestra; estos resultados están de acuerdo con otros investigadores (2), (47).

Muestra de intestino delgado sólo fue tomada en el caso 4: aislándose poliovirus Tipo III; otros investigadores también aislaron poliovirus del intestino delgado (2), (3), (6), (7), (8), (47).

Cuadro N° 1. Datos Generales de los Pacientes Estudiados

Casos	Nombre	Edad	Vac. Oral Antipolio			Procedencia	Tiempo Enfer. Clínico	Diagnóstico	Diagnóstico Anátomo Patológico	Resultado	
			1ª	2ª	3ª					Virus	Tipo
1	Denise Cosk	1 a	si	si	no	Jesús Marfa	9 hrs	Polioencefalitis	No hubo Diagnóstico	Polio	II
2	Victoria Alé- gria	2 a	si	si	no	La Victoria	7 ds	Poliomielitis Espinal Alta	Poliomielitis	Polio	I
3	Rosa Mendoza	2 a	si	no	no	Salamanca	1 d	Poliomielitis Cuadriplegia	Mielitis Aguda	Polio	I
4	Mariano Iparra guirre	10 ms	si	no	no	Chimbote	15 d.	Poliomielitis Paraplegia	No hubo Diagnóstico	Polio	III
5	Rosa Teves	1 a	si	si	no	Vía Marfa	6 ds.	Poliomielitis Espinal Alta	Poliomielitis Bronconeumonía	Polio	I
6	Gladys Huaman lazo	6 a	si	si	no	Lima-Jirón Cusco	10 ds.	Poliomielitis Paraplegia	Poliomielitis Bronconeumonía	Polio	I

Cuadro Nº 2. Muestras Tomadas y Resultados Obtenidos

C o d i g o	Nombre	Autos ia	M N E V E S T R A S										Resultados		
			Heces	Médula	Ganglio Mesen.	Intesti. Grueso	Intesti. Delgado	Higado	Bazo	Riñón	Ras. Ractal	Virus	Tipo		
1	Denise Cosk	si	no	Positi vo	Negativo	Positi vo	no	no	no	no	no	no	Positi vo	Polio	II
2	Victoria Ale- gría	si	Positi vo	Positi vo	Positivo	Positi vo	no	no	no	no	no	no	no	Polio	I
3	Rosa Mendoza	si	no	Positi vo	no	no	no	no	no	no	no	no	no	Polio	I
4	Mariano Iparra guire	si	no	Positi vo	Positi vo	Positi vo	Positi vo	Positi vo	Positi vo	Positi vo	Posi tivo	Posi tivo	no	Polio	III
5	Rosa Teves	si	no	Positi vo	Positi vo	Negati vo	no	no	no	no	Posi tivo	Posi tivo	no	Polio	I
6	Gladys Huaman- lazo	si	no	Positi vo	Positi vo	Positi vo	no	no	no	no	no	no	no	Polio	I

NO: Muestras que no fueron tomadas.

Muestras de hígado fueron investigadas en los casos 4 y 5, aislándose poliovirus Tipo III y Tipo I, respectivamente; con anterioridad otros investigadores (2), (40), (49), pusieron de manifiesto el compromiso hepático durante el curso de la poliomiélitis y lograron aislar este agente de dicho órgano.

En el caso 4 se aisló poliovirus Tipo III y en el caso 5 poliovirus Tipo I, de muestras de bazo, tal como lo lograron, Barraquer (2), Schaeffer (49). La muestra de riñón tomada en el caso 4, fue positiva para poliovirus Tipo III.

Del raspado rectal tomado en el caso I, se tipificó poliovirus Tipo II; ya otros investigadores habían aislado poliovirus del raspado rectal (17), (19), (22), (26), (29), (43).

DISCUSION

El estudio virológico de casos mortales de poliomiélitis es un hecho factible de realizar, así lo demuestran nuestros resultados que son similares a los alcanzados por Albrecht (1), Bodian (6), (7), (8), Cooper (15), Gold (23), Horstmann (28), Howe (31), Jungeblut (34), Marinesco (40), Rhodes (44), Riordan (45), Robbins (46), Voicoulesco (52), Wenner (53).

Nuestros resultados reafirman que en la evolución de la poliomiélitis existe un estadio de viremia, lo que permite realizar el diagnóstico post-mortem, mediante el cultivo de material de autopsia, aislando el agente causal. El estadio de la viremia en la poliomiélitis es aceptado por muchos investigadores. Catel (10) encontró que después de la infección oral hay incremento del virus en el tejido linfático, que luego difundiría a diversos órganos. Boyd (9), ha demostrado que el compromiso del sistema nervioso central en el hombre va precedido de viremia. Muchos investigadores están de acuerdo con estas expresiones (5), (6), (8), (18), (20), (21), (24), (26), (27), (32), (33), (35), (36), (41), (49), (53).

De los 6 pacientes estudiados, en cuatro el estudio anátomo-patológico fue compatible con el diagnóstico clínico y sólo en los casos 1 y 4, no hubo conclusión anátomo-patológica, pero, sin embargo, basados en nuestros resultados y el diagnóstico clínico, sostenemos que los 6 pacientes fueron víctimas de poliomiélitis. En los 6 casos se logró aislar poliovirus de material de autopsia, siendo del Tipo I en los casos 2, 3, 5 y 6, Tipo II en el caso 2, Tipo III en el caso 4. Dichos hallazgos ponen de manifiesto un predominio del poliovirus Tipo I,

que fue recuperado en 4 casos, en comparación del poliovirus Tipo II, un caso y el poliovirus Tipo III, aislado también en un caso.

Es necesario, también, hacer resaltar que todos estos niños recibieron vacuna oral antipolio Tipo Sabin, cuatro de ellos dos dosis; pero ésta inmunización no les significó ningún grado de protección.

CONCLUSIONES

1. En nuestro medio es posible aislar poliovirus de material de autopsia de casos fatales de poliomieltis.
2. Los 6 pacientes estudiados fueron víctimas de un cuadro de poliomieltis, aunque en dos no hubo confirmación anátomo-patológica.
3. La vacuna oral antipolio Tipo Sabin no fue efectiva en estos casos.

RESUMEN

Se efectuó el estudio virológico de 6 casos mortales de poliomieltis, habiéndose aislado poliovirus de muestras de diferentes órganos, tomadas durante las autopsias. Se aisló poliovirus Tipo I, de médula ganglio mesentérico, intestino grueso, hígado, bazo. Poliovirus Tipo II, de médula, intestino grueso, raspado rectal. Poliovirus Tipo III de médula, ganglio mesentérico, intestino grueso, intestino delgado, hígado, bazo y riñón.

NOTA.—Se agradece:

Al Dr. Guillermo Filomeno Jefe del Pabellón 7 del Hospital del Niño.

Al Dr. Gerardo Boisset, Jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital del Niño.

Al Dr. Manuel Rubio, miembro del Departamento de Ciencias Dinámicas de la Facultad de Medicina de la U. N. M. S. M.

Al "Institut Serotherapique et Vaccinal" Suisse-Berne, por su valiosa colaboración.

BIBLIOGRAFIA

1. Albrecht, R. Poliomyelitis in New York State in 1950. *New York State Journal of Medicine*. 61: 239-248, 1961.
2. Barraquer, F. y Castañer, V. E. Parálisis infantil (Poliomieltis Anterior Aguda). Parálisis infantil. (Biblioteca de Actualidad en Medicina Práctica). Tercera Edición. Editorial Modesto Usón. Valencia, 83, Barcelona, 1955.

3. Bodian, D. Experimental evidence on the cerebral origin of muscle spasticity in acute Poliomyelitis. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 61: 170-175, 1946.
4. Bodian, D. Histopathologic basis of clinical findings in Poliomyelitis. *Amer. Jour. of Medicine.* 6: 563-578, 1949.
5. Bodian, D. A reconsideration of the Pathogenesis of Poliomyelitis. *Amer Jour. Hyg.* 55: 414-430, 1952.
6. Bodian, D. Poliovirus in Chimpances tissues after virus feeding. *Amer. Jour. Hyg.* 64: 181-197, 1956.
7. Bodian, D. en Rivers. T. H. and Horsfall. *Viral and Rickettsial Infection of Man.* Third Edition, J. B. Lippincott, Company Philadelphia Montreal. Chapter 23. Poliomyelitis. Pathogenesis and Histopathology pág. 479-498, 1959.
8. Bodian, D. and Horstmann, D. Poliovirus. Chapter. 18: 430-473. En Horsfall F. L. and Tamm I. *Viral and Rickettsial Infections of Man* Fourth Edition, J. B. Lippincott Company. Philadelphia- Montreal, 1965.
9. Boyd, W. Infecciones por virus y rickettsias. Capítulo XIII: 340-363. "Tratado de Patología". Estructura y función en las enfermedades. Editorial "El Ateneo", 1965.
10. Catel, W. Poliomiélitis. "Diagnóstico en Pediatría". Tomo III. Organos Abdominales-Organos Urinarios y Genitales, Piel, Sistema Nervioso y Organos de los Sentidos, pág. 700. Salvat Editores S. A. Mallorca 41. Barcelona, España, 1967.
11. Céliz, E., Nicho N., y Cuadra. M. Prevalencia relativa de los poliovirus en la ciudad de Lima. *Anales de la Facultad de Medicina.* Volumen, 49: Número 3: 369-396. 1966.
12. Céliz, E. y Nicho, N. Estudio preliminar de las aguas servidas (agua de albañal, de mar, de piscina). *Arch. Peruanos Pat. Clin.* 11: 237-247, 1967.
13. Céliz, E., Nicho N. Casos clínicos de Poliomiélitis Paralítica. I. Rol vector de algunas moscas domiciliarias. *Arch. Peruanos. Pat. Clin.* XXII; 53-66, 1968.
14. Céliz, E. y Nicho, N. Cultivo Primario de Riñón Humano. *Arch. Peruanos Pat. Clin.* Volumen XXIII, Junio, 1969 (en prensa).
15. Cooper, M. R., Lesiak, J. M. Belbin, D. and Labzofesky, N. A. Isolation of enteric viruses during the Poliomyelitis season in Ontario, 1956-1959. *Canad. M. A. J.* 84: 200-205, 1961.
16. Cronbergs, S. and Cronberg, E. First description of a small epidemic of poliomyelitis 1802. With an extensive case report from 1807. *J. Hist. of Med.* 20: 33-37, 1965.
17. De Brito. Estudios sobre los virus entéricos en Guinea. *J. Soc. Cienc. Med. Lisboa.* 129: 87-96, 1965.
18. Dick, G. W. A epidemiology of the Poliomyelitis. *Birth Medical Jour.* 1: 68, 1959.
19. Falcoff, E. y Farina. Poliomiélitis en la ciudad de Rosario, durante el verano 1960-1961. *La Semana Médica* 119: 695, 1961.
20. Foley, J. M. *The Nervous System.* Chapter. XXXII, 1103. Text Book of

- Pathology with clinical application. Second Edition W. S. Saunders Company Philadelphia & London, 1963.
- 21 Garcia Silva, L. Vaccination anti-poliomyelitique orale et poliomyelite post-vaccination. *Maroc. Medical* 43: 949-955, 1964.
 22. Godenne, M. Isolation of type. I. Poliomyelitis virus from human cerebrospinal fluid. *Pediatrics* 19: 869-874, 1957.
 23. Gold D., Carver D. H., Heinebeg H., Adelson L. and Robbins. F. Viral infection a possible cause of sudden unexpected death in infants. *The New Eng. Jour Med.* 264; 53-60, 1961.
 24. Hamilton W. Fodor and Kokko U. P. Viremia following the administration of live poliovirus vaccines. *Amer. Journ. of Public Health* 53: 274-285. 1963.
 25. Harrison J. A. H. and Hudson N. P. A. Study of the serum neutralization test in Poliomyelitis (Absorption and elution of antibody with alumin-gel and virus-alumin-gel complex. *Jour. of Bacteriology*, 39: 405-427. 1940.
 26. Horstmann D., Collun W. R. and Mascola. Viremia in human Poliomyelitis. *Jour of Experimental Medicine.* 99: 355-370, 1954.
 27. Horstmann, D. M., Opton, E. M., Klemperer, R. Llado, B. and Vignec, A. J. Viremia in infants vaccinated with oral poliovirus vaccine Sabin. *Amer. Jour. Hyg.* 79: 47-63, 1964.
 28. Horstmann, D. Enterovirus infection of the central nervous system (The present and future of Poliomyelitis). *Med. Clin. N. Amer.* 51: 681-92, 1967.
 29. Hoskins, J. M. y colaboradores. Small scale trial with Sabin attenuated Type I poliovirus vaccine in a semiclosed community. *Britisth Medical Journal* 1: 747-753, 1962.
 30. Howe, A. T. and Bodian. D. Second attacks of Poliomyelitis (An experimental study). *Jour. Exper. Med.* 74: 145-166, 1941.
 31. Howe, A. H. and Wilson, J. L. Poliomyelitis. Chapter. 22. pág. 432-478. En Rivers. T. M. and Horsfall. *Viral and Rickettsial infections of man.* Third Edition, J. B. Lippincott Company Philadelphia Montreal, 1959.
 32. Jungeblut, G. W. and Stevens, M. Attempts to isolate Poliomyelitis virus from the paralyzed muscle of patients during the acute stage of the disease. *Amer. Jour. Clin. Path.* 20: 701, 1950.
 33. Jungeblut, G. W. Newer knowledge on the pathogenesis of Poliomyelitis. *J. Pediat.* 37: 109-128, 1950.
 34. Jungeblut, G. W. and Edwards. J. Isolation of Poliomyelitis virus of the heart in fatal cases. *Amer. Jour. Clin. Path.* 21: 601-623, 1951.
 35. Jungeblut, G. W. and Huenekens, E. J. Studies on viremia in Poliomyelitis. I. Isolation of poliomyelitis virus from the blood of a paralytic case of the disease. *Jour. Pediatrics* 44: 20-27, 1954.
 36. La V Conferencia sobre Poliomieltis (Copenhague, 1960). *La Semana Médica.* 118 :673-678, 1961.
 37. Levaditi. En Enders, F. J. General preface to studies on the cultivation of Poliomyelitis viruses in culture of tissue. *J. Immunol.* 69: 639-643, 1952.

38. Lindnmann. Isolation and typing of 8 strains in Strich. *Schwiniz Med. Wehnsehr.* 86: 782-783, 1959.
39. Ludden (T. E. and Edwards, J. E. Carditis in Poliomyelitis. And anatomic study of thirty five cases and review of the literature. *Amer. J. Path.* 25: 357-381, 1949.
40. Marinesco, M. G. Lesions hepaticas ou cours des forms graves de poliomyelitique. Quelques deductions physiopathologique et therapeutique. *Bull. Acad. Nat. Med. (Paris).* 148: 34-44, 1964.
41. Melnick, J. L. Poliomyelitis in blood stream in the experimental disease. *Pro. Soc. Exper. Biol. and Med.* 58: 14-16, 1945.
42. Mugica, L. E. Poliomieltis diagnóstico y tratamiento de la poliomieltis. Editorial Paz Montalvo, Madrid. 1957.
43. Murray, R., Kirschstein, Van Hoosier, G. and Baron, S. Comparative virulences for rhesus monkeys of poliovirus strains used for oral administration. pág. 39-64, 1959. First International Conference on Live Poliovirus Vaccines. Pan American Sanitary Bureau Regional Office of the World Health Organization. 1501. New Hampshire Avenue. N. W. Washington. 6 D. C. U. S. A. 1959.
44. Rhodes and Royen. Textbook of Virology, third edition-Baltimore. The Williams & Williams Company. Poliomyelitis. Chapter 49: 397-1953.
45. Riordan, J., Leinko, N. and Melnick, J. Multiplication of the viruses in tissue culture of testicle of monkey. *Amer. Jour. Hyg.* 55: 339-346, 1952.
46. Robbins, F. C., Enders, J. F. Welier and Florentino. Study on the Poliovirus culture in tissue culture. *Amer. Jour. of Hyg.* 54: 286: 286-293, 1951.
47. Sabin, A. B. and Ward, R. The natural history of human Poliomyelitis. I. Distribution of virus in nervous and non nervous tissue. *Jour. of Experimental Medicine* 73: 771-793, 1941.
48. Sabin, A. Recent studies and field test with a live attenuated poliovirus vaccine. First International Conference on Live Poliovirus Vaccines. Washington, S. D. C. U. S. A., pág. 14-18, 1959.
49. Schaeffer, M., Fox, M. and Li. Ch. F. Intrauterine poliomyelitis infection. Report of a case. *J. A. M. A.* 155: 248-250, 1954.
50. Stuart, Harris. A. small scale trial of type 3 attenuated living poliovirus vaccine. First International Conference on Live Polio). *Virus Vaccine.* Washington. 6. D. C. U. S. A. pag. 339-349, 1959.
51. The Committee on Typing of the National Foundation for Infantile Paralysis. Immunologic clasification of polyomieltis virus. I. A cooperative program for the typing of one hundred strains. *Amer. Jour. Hyg.* 54: 191-204, 1951.
52. Voiculesco, M. Problems of diagnosis of poliomyelitis in a vaccinated population. *Rev. Med. Liege.* 20: 281-7, 1965.
53. Wenner, H. A. and Rabe, E. F. The recovery of virus from regional lymph nodes of fatal human cases of Poliomyelitis. *Amer. J. M. Sc.* 222: 292-299, 1951.