

Sobre a transmissão do virus da febre amarella pelas fezes de mosquitos infectados ¹⁾

Pelos Drs. H. de BEAUREPAIRE ARAGÃO e A. da COSTA LIMA

(Transcripto do Supplemento das Memorias do Instituto Oswaldo Cruz — No. 8 — Junho de 1929)

Logo que surgiram os primeiros casos de febre amarella no Rio de Janeiro, occorreu-nos a ideia de averiguar qual o modo de contaminação dos individuos sujeitos ás picadas de mosquitos infectados, se exclusivamente pela saliva desses mosquitos, emittidano acto da picada, se pelas gotticulas do liquido, que sempre expellem pelo anus, quando se engorgitam de sangue.

Depois de algumas experiencias preliminares, que nos orientaram sobre a melhor technica a seguir, fizemos as que aqui descreveremos detalhadamente, pelas quaes fomos levados a concluir que as dejeções de mosquitos infectados, inoculadas por via subcutanea, são sufficientes par infectar o *Macacus rhesus*.

Os mosquitos que empregámos nas nossas experiencias (*Aedes (Stegomyia) aegypti*), obtidos de criações feitas no laboratoria, eram retirados das gaiolas comuns e transportados para gaiolas de vidro de GODOY.

Para infectal-os applicavamos estas gaiolas sobre a pelle de um macaco inoculado com o virus da febre amarella no primeiro dia de febre. Mantidos n'essas mesmas gaiolas até se tornarem infectantes, retiravamos, quando pretendiamos realisar qualquer experiencia, os necessarios exemplares, transportando-os para pequenos tubos de vidro com uma das aberturas fechada com flanela e a outra com um tampão de algodão. A flanela tem a vantagem de ser atravessada com relativa facilidade pela proboscida do mosquito e impedir que qualquer gotticula de excreta a imbeba. Esses tubos, contendo, cada um, sómente um mosquito infectado, ficavam um ou dois dias em camara não muito humida e, para que promptamente picassem por occasião da experiencia, não se lhes dava alimento algum, durante esse tempo. Escolhiamos então dois *rhesus*, um para ser exclusivamente picado pelos mosquitos através da flanela dos tubos e outro para ser inoculado com a diluição das fezes

desseos mesmos mosquitos. Logo que estes se engorgitavam de sangue no primeiro *rhesus*, afastavamos os tubos da pelle do macaco e os collocavamos horizontalmente sobre um suporte qualquer. Com o abdomen pejado de sangue os mosquitos se movem e em alguns segundos pousam sobre a parede do tubo. A emissão de gotticulas de excreta, que se inicia, ás vezes, quando o insecto ainda está terminando a sucção do sangue, mais se evidencia quando os mosquitos repousam. Expellem então gotticulas que, não raro, formam uma gotta perfeitamente visivel a olho nu e que pôde ser facilmente assignalada por uma pinta de tinta marcada na superficie externa do tubo. Retiravamos, em seguida, os mosquitos dos tubos, depois de anesthesia-los rapidamente com ether e colhiamos o material a ser inoculado. Para isto, tomavamos uma seringa com um pouco de agua esterilizada e, comprimindo o embolo, deixavamos cahir uma pequena quantidade deste liquido sobre os pontos em que se achavam as dejeções. Com a ponta da agulha faziamos a diluição, aspirando-a novamente para a seringa. A operação era repetida em todos os tubos, de modo a reunir na seringa material das dejeções de todos os mosquitos que haviam sugado o primeiro *rhesus*. Injectavamos então essa diluição, por via subcutanea, no outro *rhesus*, fazendo-se tambem algumas escarificações no tegumento do mesmo e sobre ellas vasando a mesma diluição.

Eis, em resumo, o observado nessas experiencias:

EXPERIENCIA 1 — *M. rhesus* n.º 245. Temperatura inicial, 38º,8. Picado a 7 de Janeiro de 1929 por 5 mosquitos que haviam a 17 de Dezembro de 1928 sugado o *rhesus* infectado n.º 226, no periodo febril e, d'essa data em diante, alimentados

¹⁾ Apresentado á Sociedade Brasileira de Biologia, em sessão de 29 de Maio de 1929.

a mel, como habitualmente fazemos com os mosquitos infectados.

Este macaco não apresentou reacção febril muito accentuada, sendo a maxima 39°,6 observada no 5º dia depois de ser picado. Desse dia em diante a temperatura declinou. No 8º dia apresentou-se á tarde com 37°,2 e cahido na gaiola. Foi, então, sacrificado. A autopsia e o exame histopathologico, não revelaram lesão alguma de febre amarella.

EXPERIENCIA 2. — *M. rhesus* n.º 246. Temperatura inicial: 38°,5. Inoculado tambem a 7 de Janeiro com diluição das fezes dos mosquitos que picaram o *rhesus* n.º 245.

No 3º dia depois da inoculação apresentou febre de 40º e no 4º dia 40°,1. Deste dia em diante a temperatura baixou, observando-se, entretanto, uma serie de pequenas oscillações. A 22, isto é, 15 dias depois de inoculado, novamente a temperatura ascendeu a 40°,5 oscillando, porem, nos 3 dias seguintes, entre 39°,6 e 39°,4. Finalmente a 26 a temperatura cahio, 36°,2 apresentando-se então o macaco muito enfraquecido.

Sacrificado nesse mesmo dia, verificámos que as visceras apresentavam o aspecto caracteristico observado nos casos de febre amarella. Entretanto, o exame histo-pathologico do figado não demonstrou a presença das lesões typicas da febre amarella.

EXPERIENCIA 3 — *M. rhesus* n.º 400. Temperatura inicial: 38°,8. Picado a 30 de Abril por 6 mosquitos que haviam picado a 28 de Março o *rhesus* infectado n.º 369, no primeiro dia de febre.

A 5 de Maio, isto é, 5 dias depois de picado, apresentava, de manhã, 40º. No dia seguinte a temperatura baixou a 39º, para á tarde novamente se elevar a 40°,1. A 7 — 40°,2 de manhã e á tarde. A 8 — 38°,8 de manhã. A' tarde a temperatura cahio a 37°,8 tendo então sacrificado. O exame macroscopico das visceras e histo-pathologico do figado demonstraram a presença de lesões typicas da febre amarella.

EXPERIENCIA 4 — *M. rhesus* n.º 401. Temperatura inicial: 39°,3. Inoculado a 30 de Abril com excreta dos mosquitos que sugaram o *rhesus* n.º 400.

Dois dias depois da inoculação a temperatura se elevou a 40º. Desse dia em diante oscillou entre 39°,7 e 39°,5.

A 8 foi sacrificado e autopsiado, não obstante apresentar a temperatura de 39°,5. Nessa ocasião retirámos sangue do coração e inoculámos no *rhesus* 415, da experiencia seguinte.

As visceras apresentavam aspecto normal e o exame histo-pathologico foi tambem negativo.

EXPERIENCIA 5 — *M. rhesus* n.º 415. Temperatura inicial: 38°,8. Inoculado a 8 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retirado do coração do *rhesus* n.º 401.

A 13 apresentava 40°,5, mantendo-se a temperatura elevada, entre 40°,6 e 40°,3 no dia seguinte.

A 15 de manhã, apresentava 38°,5 e ás 19,40 horas, quando foi sacrificado, 36°,8.

Na autopsia notámos lesões macroscopicas typicas da febre amarella, confirmando-se tambem essa verificação pelo exame histo-pathologico do figado, que revelou e presença de inclusões acidophilas nucleares, necrose salpicada das cellulas hepaticas, degeneração e infiltração gordurosas e congestão.

EXPERIENCIA 6 — *M. rhesus* n.º 417. Temperatura inicial: 38°,8. Picado a 10 de Maio por 5 mosquitos que sugaram a 1 de Abril o *rhesus* infectado n.º 373, no primeiro dia de febre.

A 15, á tarde, apresentava 39°,9. Nos dias seguintes a temperatura se manteve entre 40º e 40°,5. A 17 foi sangrado e o sangue inoculado do *rhesus* n.º 422. A 18 a temperatura ascendeu a 40°,8 para se manter nos dois dias seguintes em 39º. A 21, de manhã, apresentou 38°,5 e ás 18 1/2 horas — 35°,8. A 22 encontrámos o macaco morto na gaiola.

O figado, o baço e os rins apresentavam o aspecto macroscopico caracteristico observado nos casos de febre amarella. Havia tambem hemorragia no estomago.

O exame histo-pathologico revelou: numerosas inclusões acidophilas intranucleares, degeneração gordurosa moderada e necrose discreta das cellulas hepaticas.

EXPERIENCIA 7 — *M. rhesus* n.º 418. Temperatura inicial: 39°,1. Inoculado a 10 de Maio com excreta de 4 dos mosquitos que picaram o n.º 417.

A 14, pela manhã, apresentava 40º, mantendo-se essa temperatura até o dia 16. Neste dia foi sangrado e o sangue inoculado no *rhesus* n.º 423. A 17 cahio a

39°,2 pela manhã e a 38°,7 á tarde. A 18 novamente subiu a 40°,3 e a 19 a 41°,3, cahindo no dia seguinte a 37°,7, temperatura esta em que se manteve até á tarde. No dia seguinte (21) encontrámos o macaco morto na gaiola.

As visceras apresentavam lesões typicas da febre amarella, encontrando-se tambem grande parte do conteúdo estomacal denegrido. Essa verificação foi confirmada pelo exame histo-pathologico do figado, que revelou: inclusões acidophilas nucleares, necrose salpicada diminuta das cellulas hepaticas, degeneração e infiltração gordurosas e congestão.

EXPERIENCIA 8—*M. rhesus* n.º 422. Temperatura inicial: 39°,4. Inoculado a 17 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retido do *rhesus* n.º 417.

A 20 apresentava, pela manhã, 40°,1 e á tarde 40°,7. A 21 baixou a 39°,6. A 22 a temperatura da manhã era de 33°, sendo então o animal sacrificado.

As visceras apresentavam lesões macroscopicas da febre amarella.

O exame histo-pathologico revelou: inclusões acidophilas intranucleares abundantes, extensa necrose das cellulas hepaticas, degeneração gordurosa, congestão e infiltração por polymorphonucleares.

EXPERIENCIA 9—*M. rhesus* n.º 423. Temperatura inicial: 38°,9. Inoculado a 17 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retirado do *rhesus* 418.

A maior elevação de temperatura observada neste macaco (40°,2) ocorreu a 24 de Maio. A 25 a temperatura baixou consideravelmente e á tarde o animal foi encontrado morto na gaiola.

Apresentava pequenos focos de peritonite, os órgãos congestos e o sangue invadido por um coccobacillo GRAM-negativo. O exame histo-pathologico revelou, como nos casos anteriores, inclusões acidophilas nucleares, necrose intensa das

cellulas hepaticas, degeneração gordurosa e congestão.

Pelas experiencias realizadas podemos concluir que as dejeções dos mosquitos, experimentados quando já são infectantes pelas suas picadas, como estas, são infectantes.

Assim como as picadas nem sempre determinam a morte de um *rhesus*, mesmo quando o faziamos picar por varios mosquitos infectados, assim tambem as fezes podem produzir uma infecção benigna ou mesmo grave, porem sem terminar pela morte do animal inoculado. Haja vista o occorrido com os macacos das experiencias 2 e 5.

Estamos convencidos que os macacos das experiencias 1 e 2, á vista dos resultados obtidos ulteriormente e não obstante ter sido negativo o exame histo-pathologico do figado de ambos, tambem contrahiram a infecção.

Pelas experiencias aqui apresentadas verifica-se que ha toda a vantagem em sempre se colher o sangue do macaco em observação logo que se manifeste uma elevação consideravel de temperatura, para inoculal-o em outro *rhesus* e assim obter uma confirmação de que aquelle realmente se infectou, mormente nos casos de se restabelecer da infecção ou de morrer tardiamente por qualquer outra causa (2).

Rio, 29—V—1929.

NOTA ADDICIONAL—Acabámos de verificar que a diluição de excreta de mosquitos infectados, quando deposta sobre a pelle ou na conjunctiva ocular, ambas sem solução de continuidade, tambem infecta o *M. rhesus*. Neste sentido fizemos algumas experiencias que serão descriptas num proximo artigo.

(2) Os exames histo-pathologicos foram feitos pelo Dr. MAGARINOS TORRES, a quem deixamos aqui consignados os nossos agradecimentos.

Os „Archivos Rio Grandenses de Medicina“ acceitam annuncios de preparados, casas de material de laboratorio, cirurgia, automoveis, etc. etc.

A Revista sahirá mensalmente e terá grande circulação em todo o Brasil, em especial no Rio Grande do Sul.

Os pedidos de annuncios devem ser dirigidos para a caixa postal n.º 442 — Porto Alegre.