

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.

Logo que surgiram os primeiros casos de febre amarella no Rio de Janeiro, ocorreu-nos a ideia de averiguar qual o modo de contaminação dos individuos sujeitos ás picadas de mosquitos infectados, se exclusivamente pela saliva desses mosquitos, emittida no 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 dejecções de mosquitos infectados, inoculadas por via subcutanea, são sufficientes para infectar o *Macacus rhesus*.

Os mosquitos que empregámos nas nossas experiencias (*Aedes (Stegomyia) aegypti*), obtidos de criações feitas no laboratorio, eram retirados das gaiolas communs e transportados para gaiolas de vidro de GODOY (Fig. 1).

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 realizar qualquer experiencia, os necessarios exemplares, transportando-os para pequenos tubos de vidro (fig. 2) com uma das aberturas fechada com flabella e a outra com um tampão de algodão. A flabella 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 flabella dos tubos e outro para ser inoculado com a diluição das fezes desses 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 pouco 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 póde ser facilmente assignalada por uma pinta de tinta marcada na superficie externa

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

do tubo. Retiravamos, em seguida, os mosquitos dos tubos, depois de anesthesial-os 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 dejecções. 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 dejecções 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* nº. 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 nº. 226, no periodo febril e, d'essa data em diante, alimentados a mel, como habitualmente fazemos com os mosquitos infectados.

Este macaco não apresentou reacção febril muito accentuada, sendo a maxima 39º,6 observada no 5º dia depois de ser picado. Desse dia em diante a temperatura declinou. No 8º dia apresentou-se á tarde com 37º,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* nº. 246. Temperatura inicial: 38º,5. Inoculado tambem a 7 de Janeiro com diluição das fezes dos mosquitos que picaram o *rhesus* nº. 245.

No 3º dia depois da inoculação apresentou febre de 40º e no 4º dia 40º,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 40º,5 oscillando, porem, nos 3 dias seguintes, entre 39º,6 e 39º,4. Finalmente a 26 a temperatura cahio a 36º,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* nº. 400. Temperatura inicial: 38º,8. Picado a 30 de Abril por 6 mosquitos que haviam picado a 28 de Março o *rhesus* infectado nº. 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 40º,1. A 7—40º,2 de manhã e á tarde. A 8—38º,8 de manhã. A tarde a temperatura cahio a 37º,8 sendo 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* nº. 401. Temperatura inicial: 39º,3. Inoculado a 30 de Abril com excreta dos mosquitos que sugaram o *rhesus* nº. 400.

Dois dias depois da inoculação a temperatura se elevou a 40°. 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* nº. 415. Temperatura inicial: 38°,8. Inoculado a 8 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retirado do coração do *rhesus* nº. 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 a presença de inclusões acidophilas nucleares, necrose salpicada das cellulas hepaticas, degeneração e infiltração gordurosas e congestão.

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

A 15, á tarde, apresentava 39°,9. Nos dias seguintes a temperatura se manteve entre 40° e 40°,5. A 17 foi sangrado e o sangue inoculado no *rhesus* nº. 422. A 18 a temperatura ascendeu a 40°,8 para se manter nos dois dias seguintes em 39°. 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 hemorrhagia no estomago.

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

EXPERIENCIA 7—*M. rhesus* nº. 418. Temperatura inicial: 39°,1. Inoculado a 10 de Maio com excreta de 4 dos mosquitos que picaram o nº. 417.

A 14, pela manhã, apresentava 40°, mantendo-se essa temperatura até o dia 16. Neste dia foi sangrado e o sangue inoculado no *rhesus* nº. 423. A 17 cahio a 39°,2 pela manhã e a 38°,7 á tarde. A 18 novamente subio 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* no. 422. Temperatura inicial: 39°,4. Inoculado a 17 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retirado do *rhesus* no. 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 de febre amarella.

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

EXPERIENCIA 9—*M. rhesus* no. 423. Temperatura inicial: 38°,9. Inoculado a 17 de Maio, por via intraperitoneal, com sangue retirado do *rhesus* no. 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 fócios 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 dejecções dos mosquitos, experimentados quando já são infectantes pelas suas picadas, como estas, são tambem 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 ocorrido 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.