

Notas sobre a Febre Amarella

Pelos Drs. A. MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ.

O apparecimento de alguns casos de febre amarella, no Rio de Janeiro, deu occasião a que fizessemos algumas pesquisas sobre o assumpto.

O fim da presente nota é relatar os primeiros resultados desses estudos.

Dividiremos este trabalho em duas partes, na primeira relataremos os ensaios tendentes a isolar a *Leptospira icteroides* de doentes de febre amarella, tentativas essas de resultados inteiramente negativos.

Na segunda parte, trataremos da transmissão da molestia a animaes de experiencia, no caso em questão representados pelo *Macacus rhesus*, cuja receptividade para a febre amarella foi demonstrada na Africa, por STOKES, BAUER e HUDSON. Empregamos tambem uma vez em nossas experiencias o *Macacus cynomolgus* que tambem se mostrou sensivel, conforme havia verificado o Dr. HENRIQUE ARAGÃO.

PESQUISA DA *LEPTOSPIRA ICTEROIDES*.

A pesquisa da *Leptospira icteroides* foi feita não só encarando esse microorganismo como possivel agente da doença mas tambem admittindo a hypothese formulada por SCHÜFFNER de considerar a *Leptospira* um germen de invasão secundaria. Por isso, as nossas pesquisas foram feitas não só no periodo em que o sangue é infectante, mas tambem em estadios adiantados da molestia em que a presença no meio circulante de microorganismos de invasão secundaria deveria ser mais provavel.

Empregámos em nossas tentativas sangue retirado em varias phases da molestia, desde o primeiro dia até o periodo agonico. O sangue era retirado e collocado em tubos contendo solução physiologica citratada a 20/o. Muitas vezes a sementeira era feita logo após a retirada e outras após algumas horas de permanencia na geladeira á temperatura de 5º a 10ºC. Semeámos ora somente plasma, ora sangue total. De cada amostra de sangue semeavamos nunca menos de seis tubos de cultura e cada um delles com quantidades que variavam desde uma gotta até 2 a 3 c.c. Sempre empregámos o meio de NOGUCHI para *Leptospira*, tendo semeado algumas vezes alem do meio em questão, variantes desse meo taes como meio de NOGUCHI para *Leptospira* com camada de paraffina, o mesmo meio com um fragmento de orgão fresco de coelho. Tambem semeámos tubos com liquido de RINGER e ascite e tubos com sôro de coelho diluido em agua physiologica na proporção de $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{15}$ e $\frac{1}{30}$.

As culturas eram conservadas á temperatura ambiente e observadas pelo espaço minimo de um mez. Todas as culturas que durante esse prazo apresentavam qualquer turvação, eram cuidadosamente examinadas em campo escuro. Nessas condições foram examinados sangues de 13 doentes, sendo alguns delles mais de uma vez em periodos differentes da evolução

da molestia. Os resultados com o fito de cultivar a *Leptospira icteroides* foram sempre negativos.

Com o sangue de alguns desses doentes foram inoculadas cobayas, por via intraperitoneal. Com o sangue, rim e figado dessas cobayas, foram feitas passagens para uma segunda serie de cobayas, as quaes servirão para fornecer material para uma terceira passagem. Com o sangue dos animaes dessas tres series, foram feitas sementeiras em meio de NOGUCHI para *Leptospira*. Os orgãos (figado, rim e capsula suprarenal) desses animaes foram examinados em campo escuro e após impregnação.

Tambem inoculámos cobayas com visceras (figado e rim) provenientes de autopsias de alguns casos de febre amarella, bem como com urina retirada do cadaver. Todos esses exames foram improficuos para evidenciar a presença de *Leptospira*.

TRANSMISSÃO DA FEBRE AMARELLA AO *MACACUS RHESUS*.

A primeira tentativa que fizemos para obter a infecção de *Macacus rhesus*, com sangue de amarelento, foi feita depois de decorrido algum tempo do apparecimento da molestia entre nós, pois no inicio de nossas pesquisas não dispunhamos desses animaes. Sómente mais de um mez após o apparecimento dos primeiros casos, foi que podemos realizar a primeira tentativa nesse sentido. Inoculámos então um *rhesus*, por via intraperitoneal com sangue de um caso benigno, com cerca de 24 horas de molestia, o doente H. M., recolhido ao hospital annexo ao Instituto Oswaldo Cruz. O animal inoculado apresentou no 6º dia após a inoculação temperatura elevada de (40º) que baixou no dia seguinte. Passados alguns dias, observou-se nova elevação thermica depois da qual a temperatura se normalizou, nada mais apresentando o animal até agora.

Mais tarde inoculámos outro *rhesus* com o sangue do doente F. W., tambem recolhido ao hospital do Instituto Oswaldo Cruz. Esse doente apresentava tambem uma forma benigna da molestia. O sangue foi retirado cerca de 48 horas após o apparecimento dos primeiros symptomas e injectado no *rhesus* n. 6, por via intraperitoneal. A temperatura do animal, tomada diariamente á tarde (graphico n. 1), manteve-se sem alteração oscillando entre 38,1 a 39,1 até o 10º dia em que se elevou a 39,7. A temperatura tomada no dia seguinte pela manhã (10 horas), era de 39,6. Duas horas depois a temperatura havia cahido a 38º. O animal foi então sacrificado e autopsiado. A urina retirada da necropsia apresentava-se de côr amarella e continha albumina e cylindros. O figado ao exame histologico apresentava lesões embora pouco extensas, semelhantes ás descriptas por STOKES, BAUER e HUDSON, taes como necrose, degeneração gordurosa e infiltração de polynucleares.

Com o figado desse macaco, conservado quatro dias na geladeira, foi inoculado um outro *rhesus* n. 8 cuja curva thermica se encontra no graphico n. 2. No 8º dia após a inoculação a temperatura, depois de ter apresentado pequenas elevações de 39,5 e 39,3, nos dias anteriores, era pela manhã de 37,6 (8,40 horas). As 13 horas a temperatura tinha cahido a 35,2 sendo então o animal sacrificado e autopsiado.

O exame histopathologico do figado não revelou aqui as lesões typicas conforme descreveram STOKES, BAUER e HUDSON, pois não

havia necrose das cellulas hepaticas ou se existia, era tão rara, que não poudo ser encontrada pelo exame de alguns córtes. Havia além de degeneração gordurosa e infiltração de polynucleares, certas alterações da estrutura nuclear, cujo estudo detalhado será feito pelo Dr. MAGARINOS TORRES.

O figado desse animal, conservado seis dias na geleira, injectado no *Rhesus* n. 14, deu logar a uma infecção com curva thermica habitualmente encontrada nesses animaes, como se vê no graphico n. 3. Esse animal apresentou no 6º dia quédia brusca de temperatura sendo então sacrificado. A autopsia revelou os signaes geralmente observados na febre amarella experimental, sendo que pelo exame histopathologico, se poudo evidenciar a presença, embora pouco extensa, das lesões typicas de STOKES, BAUER e HUDSON acima referidas.

Posteriormente foram inoculados outros animaes, perfazendo até a presente data, 8 passagens successivas do virus. Nessas passagens temos empregado geralmente figado triturado com agua physiologica, filtrado em tella metallica e injectado por via sub-cutanea. Duas vezes empregámos sangue por via intraperitoneal, sendo que em uma dellas o sangue foi retirado na autopsia e inoculado em um *cynomolgus* que veio a morrer 14 dias após a inoculação. Outra vez, foi o sangue retirado em vida do animal, em periodo febril, dois dias antes de sacrificado (o sangue provinha do *rhesus* n. 14, cuja temperatura era na occasião de 40,5). O animal inoculado, *rhesus* n. 16, teve uma infecção com quédia brusca da temperatura no 6º dia. Em vista desses resultados, pensamos que para a passagem do virus se deve empregar de preferencia ou figado ou sangue, retirado em vida do animal, em periodo febril.

Queremos agora chamar a attenção para alguns factos que observámos no decurso de nossas pesquisas.

O primeiro facto se refere á febre. Em alguns dos animaes a temperatura maxima observada no decurso da infecção foi pouco elevada (39,7 no *rhesus* n. 6; 39,5 no *rhesus* n. 8; 39,3 no *rhesus* n. 16). Se adoptassemos o criterio da commissão constituída por STOKES, BAUER e HUDSON que sómente considera febre uma temperatura de 40º ou mais, esses animaes não teriam apresentado febre. Si porém compararmos essas temperaturas com as observadas anteriormente no mesmo animal, veremos que houve nitida elevação thermica. O que acabamos de affirmar resalta claramente do exame do graphico das temperaturas do *rhesus* n. 16, que embora apresentando uma temperatura maxima pouco elevada, 39,3, mostra sobre as temperaturas anteriores de 37,6 e 37,8 elevação bem nitida de 1,5. Assim pensamos que constitue melhor criterio para se saber se houve ou não febre no curso da infecção, a verificação de elevações da temperatura em relação ás tempeturas observadas anteriormente, no mesmo animal e não em relação a um limite determinado e invariavel para todos os animaes.

Outro facto da maior importancia se refere ás lesões observadas. Assim no *rhesus* n. 8, inoculado com figado do *rhesus* n. 6 que apresentava lesões typicas, embora pouco extensas, não havia no figado as lesões descriptas por STOKES, BAUER e HUDSON na Africa, pois não havia necrose das cellulas hepaticas. Desta forma, pelas lesões observadas no figado e de accordo com o que estabeleceu a esse respeito a commissão acima re-

ferida, não era possível pelo exame histopathologico do figado fazer o diagnostico de febre amarella. O figado desse macaco inoculado no *rhesus* n. 14, deu logar a uma infecção com todas as características da doença experimental, inclusive as lesões histopathologicas do figado, demonstrando assim, que o *rhesus* n. 8 estava effectivamente infectado com febre amarella.

Este facto se repetiu posteriormente em outro animal, o *rhesus* n. 19, de uma maneira ainda mais digna de nota.

Nesse caso, quasi todas as lesões geralmente encontradas e descritas até então como características da febre amarella experimental, faltavam completamente, existindo apenas infiltração gordurosa periporta. Nem mesmo as alterações da estructura nuclear observadas no *rhesus* n. 8, poderam ser encontradas aqui. Entretanto o figado desse animal, ao contrario do que era de esperar, reproduziu, quando inoculado no *rhesus* n. 22, uma infecção com todos os caracteres da febre amarella experimental, inclusive as lesões do figado, (necrose das cellulas hepaticas, degeneração gordurosa, infiltração de polynucleares, etc.). Convem assignalar que o *rhesus* n. 19 foi sacrificado no 5º dia após a inoculação depois de ter apresentado elevação de temperatura no 2º e no 4º dia. A temperatura era, no momento em que o animal foi sacrificado, de 38,8, isto é, mais ou menos normal, não tendo o animal apresentado o periodo de hypothermia observado em outros casos.

Assim, embora reconhecendo a importancia das lesões do figado na caracterisação da febre amarella experimental, podemos affirmar que a ausencia dellas não exclue a possibilidade da infecção do animal. Os dois casos acima citados, verificados em nossa serie de inoculações, fornece prova cabal desse facto.