

Febre maculosa das Montanhas Rochosas *

Ensaio negativo de transmissão experimental do vírus por Triatomídeos

por

Cornelius B. Philip

e

Emmanuel Dias

Entomologista, Laboratorio das Montanhas Rochosas
(Hamilton, Montana, Estados Unidos), National
Institute of Health, United States Public Health Service

Chefe de Laboratorio, Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, Brasil

Embora esteja bem estabelecido o papel fundamental dos carrapatos na transmissão da febre maculosa das Montanhas Rochosas entre os pequenos mamíferos e destes ao homem, merece investigação a possibilidade da transmissão ocasional do vírus por outros hematófagos, mormente quando essa possibilidade é favorecida pelas relações destes com seus hospedeiros. Estão nestas condições certos Triatomídeos, particularmente no Brasil onde espécies domésticas se acham amplamente distribuídas, e no Sul dos Estados Unidos, onde são frequentemente infestadas tocas de Roedores e algumas vezes mesmo habitações humanas. A maioria das espécies de barbeiro, dada a oportunidade, é capaz de sugar grande variedade de Vertebrados, inclusive o homem.

Em regiões onde grassam endemicamente a febre maculosa das Montanhas Rochosas e a febre maculosa brasileira (infecções muito semelhantes e possivelmente idênticas) existem várias espécies de *Triatomídeos*.

As únicas experiências até agora publicadas sobre o assunto (Dias & Martins, 1937) mostraram que o vírus da febre maculosa brasileira (uma amostra de Minas Geraes) não sobreviveu no estômago do *Panstrongylus megistus* por 48 horas ou mais tempo.

As experiências que se seguem, feitas com o vírus da febre maculosa das Montanhas Rochosas (amostras do Oeste de Montana), foram realizadas em parte no Laboratorio das Montanhas Rochosas, em Montana, e em parte no Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Estas experiências de transmissão e de determinação do tempo de sobrevivência do vírus nos barbeiros foram conduzidas de acordo com as espécies e número de insectos disponíveis.

* Recebido para publicação a 21 de Junho de 1938 e dado a publicidade em Novembro de 1938.

As espécies empregadas foram: *Eutriatoma uhleri* (Neiva) capturada em ninho de rato do deserto, perto de Las Cruces, New Mexico; *Triatoma protracta* (Uhler), de moradia de rato (*wood rat*) proxima a Seven Oaks, California; e *Triatoma infestans* (Klug), *Panstrongylus megistus* (Burm.) e *Rhodnius prolixus* Stal criados no laboratorio por um de nós (E. D.). Sómente um exemplar vivo de cada uma das duas primeiras especies foi conseguido.

A transmissão do virus foi tentada tanto pela picada como pela inoculação de partes do tubo digestivo, a intervallos variaveis depois de alimentação em cobaya durante o periodo de reacção febril. Nos resultados abaixo relatados são designados «negativos» aquelles em que as cobayas picadas ou injectadas não manifestaram nenhum symptoma evidente de doença num periodo de observação de 14 dias pelo menos, adquirindo mais tarde uma infecção typica em seguida á inoculação de virus de passagem.

EXPERIMENTAÇÃO

Eutriatoma uhleri. — Uma nympha encheu-se completamente em 26/7/1937 em cobaya no terceiro dia de febre, picando 7 vezes o escroto e o ventre. Subsequentemente fez uma muda, recusando alimentação durante os proximos 32 dias. Picou cobayas normaes 33, 47, 75 e 141 dias após a refeição «infectante», com resultados negativos.

Triatoma protracta. — Em 12/5/1937 uma nympha encheu-se parcialmente em cobaya infectada (reacção escrotal typica, 3.º dia de febre) e em cobaya normal, cada uma tendo soffrido alternativamente duas picadas: não resultou infecção da ultima. Trinta e dois dias mais tarde o mesmo insecto sugou outra cobaya infectada e (sem que occorresse muda) 15 e 37 dias após este repasto cobayas normaes foram picadas, igualmente com resultados negativos.

Triatoma infestans. — Barbeiros desta especie sugaram cobaya no 4.º dia de febre, em 26/10/1937. Oito dias depois, 15 exemplares acceitaram nova refeição, em cobaya normal: os resultados foram ainda negativos.

Experiencias sobre a persistencia do virus nesta especie foram feitas com outros barbeiros do mesmo lote, a intervallos de 24, 48, 72, 96, 120 e 192 horas depois da refeição «infectante». Duas cobayas eram inoculadas após os referidos intervallos, cada uma com o conteúdo estomacal de 1 insecto; sómente a inoculação das 24 horas foi feita em apenas 1 animal. As 3 primeiras cobayas injectadas (24 e 48 horas) infectaram-se, morrendo de febre maculosa typica após periodo de incubação um pouco alongado, que foi de 6 dias para a cobaya das 24 horas e de 5 e 9 dias para as das 48 horas. As inoculações feitas após 72 horas e as demais foram todas negativas. A das 192 horas foi praticada com 2 dos barbeiros utilizados nas já referidas tentativas de transmissão pela picada.

Quadro 1

Dados experimentaes sobre as tentativas de transmissão do virus da Febre maculosa das Montanhas Rochosas por cinco especies de Triatomideos.

Experiencia Intervallo	Especie	Cobaya n.	N. de barbeiros	Observações			Resultado	Próva de imunidade Nótas	
				DI	DM	DNR			
<i>Picada</i> 33, 47, 75, 141 dias	<i>uhleri</i>	1, 2, 3, 4	1			14	negativo	Cobayas não immunes	
		5	1			18	id.	Não immune. Transmissão "mecha- nica".	
	0 15, 37 dias	<i>protracta</i> id.	6, 7	1		14	id.	Não immune.	
	8 dias	<i>infestans</i>	8	15		21	id.	Não immune	
0 0 2 dias	<i>prolixus</i> id. id.	34 35 34	15 7 1			28 17 26	id. id. id.	id. Transm. mechanica. id. id. id.	
<i>Inoculação</i> 3 horas 24 horas	<i>prolixus</i>	36	1	3	9		positivo		
	<i>infestans</i>	9	1	6	10		id.		
	<i>megistus</i>	20	1	4	10		id.		
	id.	21	1	4	S		id.	Immune	
	id.	28	1	4	10		id.		
	<i>prolixus</i>	37	1	5	S		id.	Immune	
	48 horas	<i>infestans</i>	10	1	5	13		positivo	
		id.	11	1	9	14		id.	
		<i>megistus</i>	22	1	11	S		id.	Immune
		id.	23	1	?	4		sem valor	Pneumonia
		id.	29	1	6	12		positivo	
		id.	31	1	4?	19		sem valor	
<i>prolixus</i>		38	1	4	10		positivo		
72 horas	<i>infestans</i>	12, 13	2			29	negativo	Não immunes	
	<i>megistus</i>	24	1			19	negativo ?	Morreu sem febre antes da prova de imunidade	
	id.	25	1	12	20		duvidoso		
	id.	30	1	6	13		positivo		
	id.	32	1			14	negativo	Não immune	
	<i>prolixus</i>	40	1	6	14		positivo		
96 horas	<i>infestans</i>	14, 15	2			28	negativo	Não immunes	
	<i>megistus</i>	33	1	?	9		duvidoso	Temperatura maxima 39,9 Ausencia de lesões	
	<i>prolixus</i>	34	1			14	negativo	Não immune	
	<i>prolixus</i>	41	1			21	id.	id.	
120 horas	<i>infestans</i>	16, 17	2			27	id.	Não immune	
144 horas	<i>megistus</i>	26, 27	2				sem valor	Infecção intercorrente	
192 horas	<i>infestans</i>	18, 19	2			21	negativo	Não immunes	
12 dias	<i>megistus</i>	28	1	9	17		sem valor	Infecção intercorrente	
<i>Inoc. fezes</i> 48 horas	<i>prolixus</i>	39	2			16	negativo	Não inmune. Fezes eliminadas apos refeição parcial, 48 horas depois de sucção infectante.	

Explicação: DI = dias de incubação, DM = dia da morte, S = sobrevivida, DNR = no. de dias decorridos sem reacção febril até á inoculação do virus para próva de imunidade. Todos os barbeiros foram alimentados inicialmente em cobayas no 3o. ou 4o. dia de febre, geralmente com reacção escrotal.

Panstrongylus megistus. — Um lote foi alimentado em cobaya com reacção escrotal e no 3.^o dia de febre, no dia 23/4/1937. Experiencias por picada não foram realizadas, em vista dos resultados negativos obtidos com outras especies. A intervallos de 24, 48, 72 e 144 horas duas cobayas eram injectadas por via intraperitoneal, cada uma com o conteúdo intestinal de 1 insecto. Os animaes inoculados aos prazos de 24 a 48 horas tiveram febre maculosa typica; um do primeiro par escapou, mostrando-se subseqüentemente immune á inoculação de virus-sangue; 1 cobaya das 48 horas morreu de pneumonia intercorrente. Os tests restantes ou foram negativos ou foram invalidados pela intercorrencia de outras infecções.

Em 5/5/1937 novo lote de *megistus* sugou animal infectado e a prazos de 24, 48 e 72 horas, e 12 dias, inoculações eram praticadas em cobayas normaes, cada um com tubo digestivo de 1 insecto. Os tres animaes inoculados até o prazo de 72 horas morreram de febre maculosa typica, tendo apresentado periodos de incubação de 4 a 6 dias. A inoculação do 12.^o dia foi inutilisada por infecção intercorrente.

A experiencia foi ainda repetida em 4/1/1938, a periodos de 48, 72 e 96 horas depois de novos barbeiros sugarem animal infectado. Uma cobaya foi injectada com conteúdo intestinal de 1 insecto aos prazos de 48 e 72 horas, ao passo que ás 96 horas 2 cobayas foram inoculadas com emulsão de tubo digestivo de 4 nymphas. A inoculação das 72 horas e uma das de 96 horas foram negativas, tendo sido as restantes invalidadas por infecções secundarias.

Rhodnius prolixus. — Como na unica tentativa de transmissão mechanica pela picada sómente 1 individuo (*T. protracta*) tivesse sido empregado, resolvemos realizar mais 2 experiencias nesse sentido, em Fevereiro de 1938, usando 2 grupos de *R. prolixus*, compostos por respectivamente 15 e 7 exemplares adultos. Deixavam-se os insectos sugar uma cobaya infectada e em seguida uma cobaya normal, alternativamente, até saciedade, usando-se cobayas separadas para cada grupo. Do primeiro grupo, 7 barbeiros fizeram 1, 5 fizeram 2 e 3 fizeram 3 picadas alternadas. Do segundo grupo, 6 picaram 1 vez cada animal e 1 sugou alternadamente tres vezes em cada cobaya. Os resultados de ambas experiencias foram negativos.

O conteúdo do tubo digestivo de 2 exemplares do 1.^o grupo, inoculado em cobaya normal cerca de 3 horas depois da alimentação, produziu typica febre maculosa, o que prova haverem os insectos ingerido o virus mas não terem sido capazes de o transmitir mechanicamente.

Quatro outros *R. prolixus*, ainda não usados, sugaram tambem a cobaya infectada que servira ao primeiro grupo de insectos, sendo seu conteúdo intestinal inoculado cada dia em 1 cobaya: as inoculações de 24, 48 e 72 horas foram positivas, a de 96 horas negativa.

Dejecções do insecto que serviu para a inoculação das 48 horas, eliminadas pouco depois de haver elle sugado uma cobaya normal, foram diluidas em soro physiologico e inoculadas em outro animal normal: nem a cobaya picada nem a inoculada adquiriram a infecção.

Os protocollos das experiencias acima acham-se resumidos no quadro 1.

SUMMARIO E CONCLUSÕES

1. — As seguintes especies de Triatomideos não puderam transmittir pela picada o virus da febre maculosa das Montanhas Rochosas a cobayas normaes, nos seguintes prazos após a succção de animal infectado: *Eutriatoma uhleri*, 33, 47, 75 e 141 dias (1 exemplar); *Triatoma protracta*, 15 e 37 dias (1 exemplar), *Triatoma infestans*, 8 dias (15 exemplares), e *Rhodnius prolixus*, 2 dias (1 exemplar). Foi demonstrado por inoculação que o ultimo insecto ainda continha o virus vivo.
2. — Experiencias de transmissão mechanica, por picada interrumpida em animal infectado e continuada immediatamente em animal são, foram tambem negativas, com as especies *T. protracta* e *R. prolixus*. Um unico insecto da primeira especie picou 2 vezes cada animal, enquanto que 22 exemplares da segunda especie picaram de 1 a 3 vezes cada cobaya.
3. — A inoculação de gottas de dejeccções de um *R. prolixus* eliminadas 2 dias depois de sugar animal infectado, não produziu a infecção em cobaya normal, não obstante ter sido demonstrada a presença do virus no organismo do barbeiro, por inoculação do conteúdo estomacal em outra cobaya.
4. — Foram feitas experiencias para determinar o tempo de sobrevivencia do virus nos barbeiros, inoculando-se conteúdo intestinal a diversos intervallos depois da succção de cobayas infectadas, com os seguintes resultados:
T. infestans: positivo 1 vez em 24 horas e 2 vezes em 48 horas; negativo 2 vezes em 72, 96, 120 e 192 horas. *P. megistus*: positivo 3 vezes em 24 horas, 2 vezes em 48 horas e 1 vez em 72 horas; negativo 1 vez em 72 e 96 horas; resultado duvidoso ou sem valor (infecção intercorrente) 1 vez em 48 horas e 2 vezes a 72, 96 e 144 horas cada um. *R. prolixus*: positivo 1 vez em 24, 48 e 72 horas e negativo em 96 horas.
5. — Em vista dos resultados destas experiencias, feitas com 5 especies pertencentes a 4 generos de Triatomideos, torna-se muito pouco provavel que estes Hemipteros possam transmittir pela picada o virus da febre maculosa das Montanhas Rochosas, ou retel-o em seu organismo, em estado virulento, por mais de 2 a 4 dias.

REFERENCIA

DIAS, E. & MARTINS, A. V.

1937. Aspectos do typho exanthematico em Minas Geraes. Brasil Médico, **51** : 431-441.

Table 1

Test data of attempted transmission of Rocky Mountain spotted fever by five species of Triatomidae.

Interval feeding	Species	Guinea pig n.	N. bugs	Outcome			Results of test	Immunity test and remarks
				DI	DD	DNR		
33, 47, 75, 141 days	<i>uhleri</i>	1 to 4	1			14	all negative	All susceptible
0	<i>protracta</i>	5	1			18	negative	Interrupted feeding-susceptible
15, 37, days	do	6, 7	1			14	both do	Both susceptible
8 days	<i>infestans</i>	8	15			21	negative	Susceptible
0 do	<i>prolixus</i>	34	15			28	negative	Interrupted feeding-susceptible
0 do	do	35	7			17	do	Do do
0 do	do	34	1			26	do	Susceptible
<i>Injection</i>								
3 hours	<i>prolixus</i>	36	1	3	9		positive	
24 do	<i>infestans</i>	9	1	6	10		do	
	<i>megistus</i>	20	1	4	10		do	
	do	21	1	4	R		do	Immune
	do	28	1	4	10		do	
	<i>prolixus</i>	37	1	5	R		do	Immune
48 hours	<i>infestans</i>	10	1	5	13		positive	
	do	11	1	9	14		do	
	<i>megistus</i>	22	1	11	R		do	Immune
	do	23	1	?	4		valueless	Pneumonia
	do	29	1	6	12		positive	
	do	31	1	4?	19		valueless	
	<i>prolixus</i>	38	1	4	10		positive	
72 hours	<i>infestans</i>	12, 13	2			29	negative	Both susceptible
	<i>megistus</i>	24	1			19	negative ?	Died afebrile before im. test
	do	25	1	12	20		doubtful	
	do	30	1	6	13		positive	
	do	32	1			14	negative	Susceptible
	<i>prolixus</i>	40	1	6	14		positive	
96 hours	<i>infestans</i>	14, 15	2			28	negative	Both susceptible
	<i>megistus</i>	33	1	?	9		doubtful	Maximum temperature 39.9°C. no suggestive lesions
	do	34	1			14	negative	Susceptible
	<i>prolixus</i>	41	1			21	negative	Do
120 hours	<i>infestans</i>	16, 17	2			27	negative	Both susceptible
144 hours	<i>megistus</i>	26, 27	2				valueless	Intercurrent infection
192 hours	<i>infestans</i>	18, 19	2			21	negative	Both susceptible
12 days	<i>megistus</i>	28	1	9	17		valueless	Intercurrente infection
<i>Feces injec.</i> 48 hours	<i>prolixus</i>	39	2			16	negative	Fresh feces deposited During partial feeding 48 hours after infected feeding susceptible

Explanation: - All insects initially fed on infected guinea pigs in 3d or 4th day fever and usually with scrotal lesions. DI = days incubation, DD = day of death, R = recovery, DNR = days of no temperature reaction to time of immunity test.