

Poderá o carrapato transmitir a lepra ? *

Mais quatro amostras de culturas de bacilos acido-alcool resistentes obtidas de carrapatos (2 de "Amblyomma cajennense" e 2 de "Boophilus microplus") infectados em leprosos do Paraná

3.^a Nota

Pelos Drs.

H. C. de Souza-Araujo

Chefe do Laboratório de Leprologia do Instituto Oswaldo Cruz

e

Ruy Noronha Miranda

Diretor do Hospital-Colônia São Roque, Paraná.

(Com 23 figuras no texto)

Introdução — Tendo sido designado pelo Diretor do Instituto Oswaldo Cruz para prosseguir as minhas pesquisas sobre a etiopatogenia da lepra no leprosário do Estado do Paraná, encontrei ali, da parte das autoridades sanitárias, todas as facilidades necessárias, e na pessoa do Diretor do Hospital-Colônia São Roque, o Dr. Ruy Noronha Miranda, o mais esclarecido e eficiente colaborador. Trabalhamos juntos de 25 de maio a 5 de junho, quando regressei a Manguinhos, trazendo os carrapatos infectados em leprosos para prosseguir aquí os estudos experimentais, enquanto ele continuava ali nas observações clínicas, cujos protocolos redigiu e constituem a primeira parte desta nota. As suas conclusões, fruto da sua experiência pessoal, vieram confirmar hipóteses e esclarecer dúvidas constantes das minhas notas anteriores, merecendo, portanto, ser publicadas sob sua exclusiva autoria. Na 2.^a parte relatarei os resultados das minhas experiências pessoais, sob a minha exclusiva responsabilidade.

Manguinhos, 20 de agosto de 1942.

SOUZA ARAUJO

* Recebido para publicação a 22 de agosto e dado à publicidade em setembro de 1942.

I PARTE

*Protocolos dos trabalhos realizados no Hospital-Colônia São Roque,
pelo seu Diretor, Dr. Ruy Noronha Miranda*

Dia 25 de maio de 1942.

Colheita e identificação de carrapatos em Bovídeos do Hospital-Colônia São Roque. Espécie : *Boophilus microplus*.

Foram capturados exemplares adultos e ninfas, todos com escassa quantidade de sangue do Bovídeo.

Os hematófagos foram colocados em uma turma de doentes internados, com o auxílio de um aparelho protetor, de invenção do Dr. Souza-Araujo, que, posteriormente, foi por ele modificado, fornecendo, então, melhores resultados (Vide figs. 1 a 4).

Este grupo de doentes constituiu a *Primeira Turma*, cujo prosseguir nos experimentos, vai abaixo discriminado.

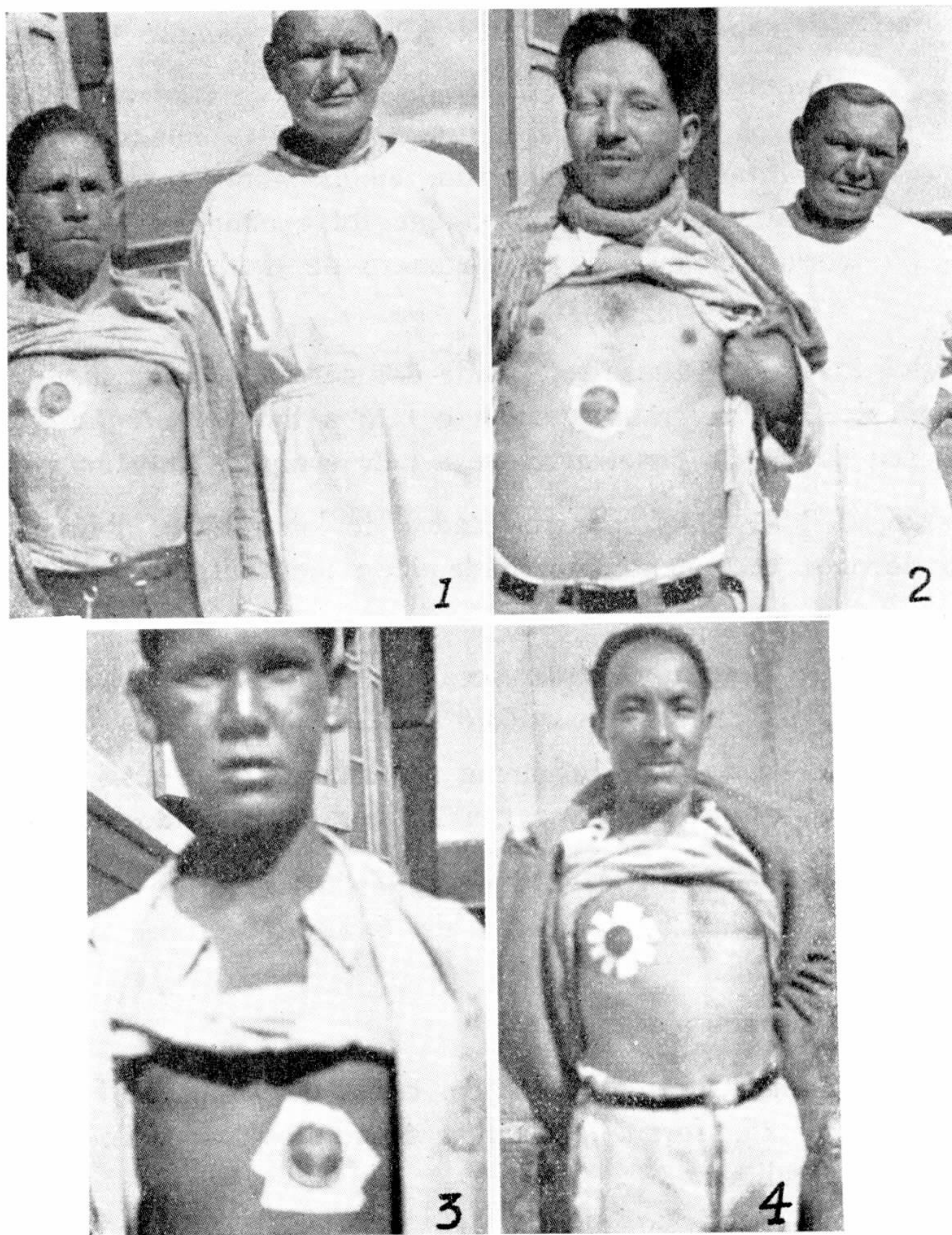
Primeira Turma (25/5/1942)

Doente 1 — Marins Dominico. Já possuía um carrapato, localizado na perna direita, onde se instalou espontaneamente.

Doente 2 — José de Sá, branco, com cerca de 35 anos, de forma clínica L2-N1. Em 25, recebeu 6 adultos sobre o peito, com aparelho; há dias estava com 3 ninfas presas ao umbigo, sem aparelho. *Resultado* : Todos os carrapatos colocados morreram sem parasitar, ou presos ao leucoplasto ou por traumatismo exercidos pelo doente em seus movimentos. Das ninfas localizadas no umbigo, uma continuou presa por mais seis dias, e foi retirada para exame, repleta. Em 29, colocou mais 10 adultos sobre o peito, com aparelho e, estes, parasitaram perfeitamente o doente, do qual foram tiradas duas fotografias (figs. 4 e 5).

Doente 3 — Rodolfo Lueders, branco, cerca de 34 anos, forma L3-N2. Em 25, foram colocados 2 adultos no umbigo, sem aparelho. *Resultado* : Negativo.

Doente 4 — José Moreira Sobrinho, branco, cerca de 28 anos, forma L1. Em 25, recebeu 6 adultos, no ventre, com aparelho. Em 26, 2 haviam pegado; em 27, forneceu 1 adulto cheio. Todos os outros morreram pregados ao leucoplasto.



Fotos Dr. Souza-Araujo

Fig. 1-2 — O enfermeiro Roberto, do Leprosário São Roque, ao lado de 2 leprosos parasitados por carrapatos, mediante aparelho de contenção: coador de chá preso à pele com faixas de esparadrapo.

Fig. 3 — Outro leproso com carrapatos. Vê-se no seu abdome o aparelho de contenção, através do qual se observa a atividade dos ixódidas. Este feitiço do aparelho, com largas faixas de leucoplasto, não deu bom resultado.

Fig. 4 — O doente José Sá com carrapatos presos à pele e protegidos por meio do aparelho inventado pelo Dr. Souza-Araujo: pequeno coador de chá circundado por uma larga faixa de esparadrapo aparada em forma de roseta: resultado ótimo.

Resultado : pelo que foi dito acima, 1, apenas, pegou, porem, de maneira efetiva, enchendo-se do sangue humano.

Pesquisa de Laboratório : O carrapato capturado em 27 (estava cheio e solto sobre a pele), foi examinado em 28. Triturado em água destilada, emulsionado e centrifugado, forneceu regular sedimento que foi examinado em esfregaços e corado pelo Ziehl, em número de dois. O exame bacterioscópico foi negativo.

Observação 1 — A quase totalidade dos carrapatos que não se fixavam à pele humana e que morriam, deviam o fato a ficarem pregados ao leucoplasto, no seu desejo de penetrar entre a pele e aquela substância.

Observação 2 — Os fracos resultados de laboratório, obtidos no Hospital, são devidos, certamente, ao inadequado material utilizado, que era o existente.

Doente 5 — José Mariano Dondeo, branco, 48 anos, forma L3-N2, em R1. Em 25, foram colocados 6 adultos, sobre a coxa, com aparelho.

Resultado : 3 pegaram e sugaram durante dois dias, ficando repletos de sangue. Em 27, foram recolhidos 2, cheios.

Doente 6 — João Antonio de Oliveira, pardo, cerca de 32 anos, forma L3. Em 25, colocação de 6 adultos, sobre o ventre, com aparelho.

Resultado : Negativo.

Doente 7 — Carmo Coprolato, branco, cerca de 28 anos, forma L3-N3. Em 25, foram colocados 6 adultos, sobre o ventre, com aparelho.

Resultado : Negativo.

Doente 8 — Jorge Rodrigues, pardo, 33 anos, forma L3-N1, Tub. pulmonar. Em 25, 6 adultos, sobre o ventre, com aparelho.

Resultado : Negativo.

Doente 9 — Alfredo de Oliveira, branco, cerca de 32 anos, forma L2. Em 25, 9 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : Negativo.

Doente 10 — Firmo Pereira, preto, 34 anos, forma L3. Em 25, 7 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : Negativo.

Doente 11 — João Leinecker, branco, 35 anos, forma, L1-N1. Tem, há dias, 8 ninfas sobre o peito, sem aparelho. Em 27, foram as mesmas retiradas para exame.

Pesquisas de Laboratório : Em 28, estas ninfas foram examinadas. Após trituração com água destilada, emulsão e centrifugação, foi obtido o sedimento (escasso) que, ao exame bacterioscópico, resultou negativo.

Segunda Turma (26/5/1942)

Em 26 de maio, prosseguiram as experimentações e, devido a que "*Boophilus microplus*" não forneceu, com a primeira turma, resultados muito bons, procedeu-se a uma pesquisa pelos arredores do Hospital, com o fim de procurar Ixodídeos de outras espécies ; no leprosário só foram encontrados daquela espécie referida. Na Fazenda Palmeira, situada a 4 kms. do Hospital, foi feita uma captura de Ixodídeos, em cavalos e bois, porem, todos da mesma espécie. Com este material, foi experimentada uma segunda turma de doentes, com o auxílio do aparelho do Dr. Souza-Araujo, aperfeiçoado, como se vê na fig. 4.

Doente 1 — João Severiano, pardo, cerca de 30 anos, forma L2. Em 26 vários adultos e ninfas, procedentes de cavalo, colocadas no ventre, com aparelho. *Resultado* : Em 28, tinha 3 ninfas presas. Posteriormente, caíram.

Doente 2 — Oscar Araujo, branco, 38 anos, forma L3-N1. Apresenta, já, uma ninfa, presa ao ventre, sem aparelho. Depois de mais três dias, foi retirada.

Doente 3 — Amadeo Alves Cabral, branco, 23 anos, forma L2-N1. Em 26, colocados 7 adultos e ninfas, sobre o ventre, sem aparelho. *Resultado* : Em 27, tinha 2 adultos e 2 ninfas presos. Posteriormente, largaram.

Doente 4 — Joaquim Rosa, branco, 29 anos, forma L2-N1. Em 26, vários adultos, sobre o peito, com aparelho. *Resultado* : Em 27, 3 presos. Em 28, dois foram retirados para exame.

Doente 5 — Eugenio Cremonezzi, branco, 48 anos, forma L3-N1. Em 26, colocados vários adultos, ventre, com aparelho. *Resultado* : Em 27, quatro presos ; em 28, uma ninfa presa, somente, que caiu, depois.

Doente 6 — Francisco Antonio Ferreira, branco, 49 anos, forma L3-N1. Em 26, recebeu vários adultos, sobre o peito, com aparelho. *Resultado* : Em 27, um adulto preso ; em 28, nenhum preso.

Doente 7 — José Mariano Dondeo, branco, 48 anos, forma L3-N2, em R. leprótica. Em 26, recebeu vários adultos, na coxa, com aparelho. *Resultado* : em 27, todos haviam pegado e forneceu um que, após as 24 horas de sucção, já estava quase repleto. Em 28, ainda tinha 5 adultos sugando na coxa. Em 29, dois estavam repletos, um dos quais solto ; estes foram colhidos. *Dermatite* : neste dia, a coxa do paciente apresentava-se, no local parasitado, com várias pústulas, sobre pápulas congestivas, que eram a expressão do local onde havia picado o Ixodídeo.

Em 2/6, ainda tinha 3 pegados na coxa, ainda não repletos. Em 27, forneceu mais um carrapato, cheio, que o estava parasitando há quatro dias, colocado espontaneamente antes do início das experiências.

Pesquisas de Laboratório : Em 28/5, foram examinados, bacterioscopicamente, pelo mesmo método usado anteriormente, os dois adultos fornecidos em 27, um tendo sugado 24 horas, outro 4 dias. O abundante sedimento obtido, esfregado e corado em duas lâminas, resultou *negativo* para o bacilo de Hansen. Em 2/6, foram examinados os dois grandes carrapatos colhidos em 29/5 cheios e que sugaram durante 3 dias. Na data do exame, ainda estavam vivos no laboratório. A técnica foi — lavagem com água destilada, trituração de ambos com o mesmo líquido, emulsão, centrifugação durante 25 minutos ; o abundante sedimento foi examinado pelo método de Ziehl, não revelando bacilo de Hansen. No dia seguinte, o mesmo sedimento foi examinado, não revelando, ainda, bacilos de Hansen (*) e, sim, abundantes bacilos ácido-sensíveis.

Pesquisas realizadas no Rio — Os parasitos que ainda ficaram no paciente, tanto da primeira como da segunda turma, foram retirados em 4/6, em número de cinco e levados pelo

(*) Nota : ainda aqui, foram empregados os utensílios inadequados existentes no Hospital.

Dr. Souza-Araujo para Manguinhos. Segundo o resultado de lá recebido, temos o seguinte :

“José Dondeo, 2 ninfas *Boophilus*, sugou 10 dias. Ësfregaço conteúdo intestinal. 1.º ex. positivo raros. O mesmo, 3 *Boophilus* pequenos. Sugaram 10 d. Retirados a 4/6. 1.º ex. positivo raros”.

- Doente 8 — Haroldo Soares, branco, 17 anos, forma L2-N2. Em 16, recebeu adultos e ninfas, em número de 10, no peito, com aparelho. *Resultado* : em 27, um apenas preso; em 29, o carrapato fugiu do aparelho e localizou-se no ventre ; os restantes morreram. Em 31, aquele hematófago largou, cheio e vivo.
- Doente 9 — Paulo Holiestuko, branco, 32 anos forma L2-N1. Em 26, recebeu vários adultos sobre o peito, com aparelho. *Resultado* : no dia seguinte, tinha 3 presos, que posteriormente foram perdidos por descuido do paciente.
- Doente 10 — João Ant.º Oliveira, pardo, 29a., forma L3-N1. Em 26, recebeu adultos e ninfas, no peito, com aparelho. *Resultado* : em 27, 2 adultos e 1 ninfa presos ; foram retirados a 28.
- Doente 11 — José Soares Gonçalves, branco, cerca de 28 anos, forma ?. Em 26, adultos e ninfas, sem aparelho. *Resultado* : em 27 e 28, dois presos ; em 29, uma ninfa presa apenas.

Terceira Turma (27/5/1942)

Em 27 de maio, procedeu-se a nova colheita e identificação de carrapatos em gado do Hospital, para serem iniciadas as experiências com uma terceira turma de doentes ; na mesma data.

Espécie : *Boophilus microplus*. (♀)

- Doente 1 — João Teixeira, branco, 37 anos, forma L3-N1. Em 27, recebeu 7 adultos, sobre placa lepromatosa do abdome, com aparelho e a 28, várias vezes, sem aparelho. *Resultado* : Negativo.
- Doente 2 — Antonio Santos, branco, 27 anos, forma L3-N1. Em 27, 6 adultos e 1 ninfa sobre o abdome, com aparelho. *Resultado* : em 28, 1 adulto e 1 ninfa presos ; em 29, idem, apresentando sinais de inúmeras picadas. Cairam, depois, por descuido.

Doente 3 — Frederico Ramtunn, branco, 45 anos, forma L3-N1. Em 27, recebeu 9 adultos e 1 ninfa no abdome, com aparelho, desde 25/5, tem mais três, no escroto, sem aparelho.

Resultado : em 28, três adultos presos, ainda pequenos ; em 29, idem. Revela, o doente, que os parasitos mordem muito, durante a noite. Em 28, foi retirado um adulto e, a 2/6, foram retirados os cinco restantes.

Pesquisa de Laboratório : Dos cinco adultos colhidos a 2/6, três foram examinados no Laboratório do Hospital. Eram ótimo material, pois haviam sugado o doente durante sete dias ; os esfregaços do sedimento foram, porem, negativos. Entusiasmados com o esplêndido resultado do exame do conteúdo intestinal de um outro Ixodídeo, foram feitos esfregaços deste material, procedente de dois dos carrapados ; os esfregaços foram inutilizados durante a preparação. Estes exames foram feitos a 3/6.

Pesquisas realizadas em Manguinhos, pelo Prof. Souza-Araujo : os restantes três carrapados, procedentes deste doente, deram resultado positivo.

Doente 4 — Benedito Cardoso, pardo, 32 anos, forma L3-N1. Em 27, recebeu 7 adultos e 3 ninfas, sobre o abdome, com aparelho.

Resultado : em 28, tinha 4 adultos e 1 ninfa presos ; um adulto já estava repleto e foi retirado (despregado). Em 29, foi retirado mais um adulto, cheio, e mais dois adultos, um cheio e outro semi-cheio.

Pesquisas de Laboratório : Em 3/6, foi examinado um dos adultos colhidos em 29/5 ; o animal estava vivo no Laboratório. Fez-se um esfregaço do conteúdo abdominal que foi fixado pelo álcool absoluto e corado pelo Ziehl ; resultou negativo.

Pesquisas realizadas em Manguinhos : dois dos adultos recolhidos em 29/5 e um outro carrapato que sugou apenas 22 horas (colocado fora do grupo de experiência), foram examinados no Rio, pelo Dr. Souza-Araujo com resultados positivos.

Doente 5 — Salvador Levinski, branco, 48 anos, forma N3-L2. Em 27, recebeu 8 adultos e 1 ninfa, sobre o abdome, com aparelho.

Resultado : em 28, tinha 4 adultos vivos, os restantes mortos.

Três daqueles, estavam presos, um solto, cheio já, em 29/5 ; este e outro, cheio mas preso, foram colhidos. Em 2/6, foram retirados os dois restantes que estavam semi-cheios e mortos no leucoplasto.

Doente 6 — Alcebiades Pereira, branco, 32 anos, forma L3-N1. Em 27, recebeu 8 adultos, sobre o peito, com aparelho.

Resultado : em 28, tinha 4 adultos pegados, um dos quais, já repleto, que foi retirado para exame (despregado). Em 29, foi retirado mais um adulto, repleto, para exame. Dos dois carrapatos restantes não há anotações a respeito.

Pesquisa de Laboratório : O Ixodídeo retirado a 28 e que, com 24 horas de parasitismo, estava repleto, foi examinado no Laboratório do Hospital, em 29. O método empregado, foi o mesmo anterior. Fizeram-se sete lâminas do sedimento, sendo *negativas* as cinco primeiras. No dia seguinte, mais duas lâminas feitas revelaram : uma, quatro bacilos a. a. r., outra, nenhum ; ambas, muitos bacilos ácido-sensíveis. O adulto retirado em 29, foi conservado no Laboratório e examinado a 2/6, quando ainda vivo. *Técnica* : a mesma empregada anteriormente, sendo que, antes da emulsão e trituração com água destilada, foi colhida uma porção do conteúdo intestinal, fazendo-se com ela um esfregaço. *Resultado* : O esfregaço do conteúdo intestinal, corado pelo Ziehl, deu um resultado fortemente *positivo* (acrescente-se que foi fixado pelo álcool absoluto). Foram encontrados vários feixes de bacilos, uma massa, muitos bacilos isolados e uma globia bem nítida, com bacilos íntegros e bacilos digeridos.

Os resultados obtidos com o sedimento da trituração do mesmo carrapato, e que deveriam ser ainda mais ricos, foram completamente *negativos* ! No dia seguinte, outras lâminas feitas com o mesmo sedimento, resultaram, igualmente negativas verificando-se, apenas, a presença dos mesmos bacilos ácido-sensíveis, já referidos. Quer fixando-se o material pelo calor ou álcool absoluto, foram sempre negativos os resultados. *Comentário* : Certamente, aqui, incidiram as mesmas causas desconhecidas que vinham tornando sempre negativas as pesquisas, possivelmente ligadas ao fato de se estar utilizando um vasilhame inadequado. Isto leva a que, não se dê completa fé à negatividade de todas as pesquisas anteriores, negativi-

dade esta, ainda, em desacordo com os resultados obtidos no Rio, pelo Prof. Souza-Araujo.

Lesões Cutâneas : A instalação dos hematófagos sobre a pele deste paciente, provocou uma intensa reação local, expressa por pápulas congestivas e algo hemorrágicas e, mesmo, hemorragias filiformes do local picado pelo aparelho de sucção do parasito. Conforme verificação posterior, no local picado, havia formação de pústulas.

Doente 7 — Oscar Hoisio, japonês, 17 anos, forma L3-N1. Em 27, recebeu 3 adultos e 3 ninfas, sobre o abdome, com aparelho. *Resultado* : Negativo.

Doente 8 — Arlindo Peres de Castro, branco, 39 anos, forma L3-N2. Em 27, recebeu 4 adultos e 2 ninfas, sobre o peito, com aparelho. *Resultado* : em 29, tinha 2 adultos e 2 ninfas presos. Retirada de 1 adulto cheio para exame. Outro adulto cheio foi retirado em 2/6.

Pesquisa de Laboratório : Realizada em Manguinhos pelo Dr. Souza-Araujo, com resultado positivo.

Fora das turmas, outros doentes forneceram carrapatos, todos examinados em Manguinhos pelo Dr. Souza-Araujo. Estes resultados vão discriminados, abaixo.

“José de Sá, *Boophilus*. Sugou 10 dias no umbigo. Retirado a 4/6. 1.º ex. positivo raros”.

“José de Sá. 2 *Boos* adultos. Sugaram 50 horas. Retirados a 2/6. 1.º ex. positivo raros”.

Joaquim Rosa. 2 *Boos* que lhe sugaram 48 horas. Retirados a 2/6. 1.º ex. positivo : bacilos isolados e um feixe”.

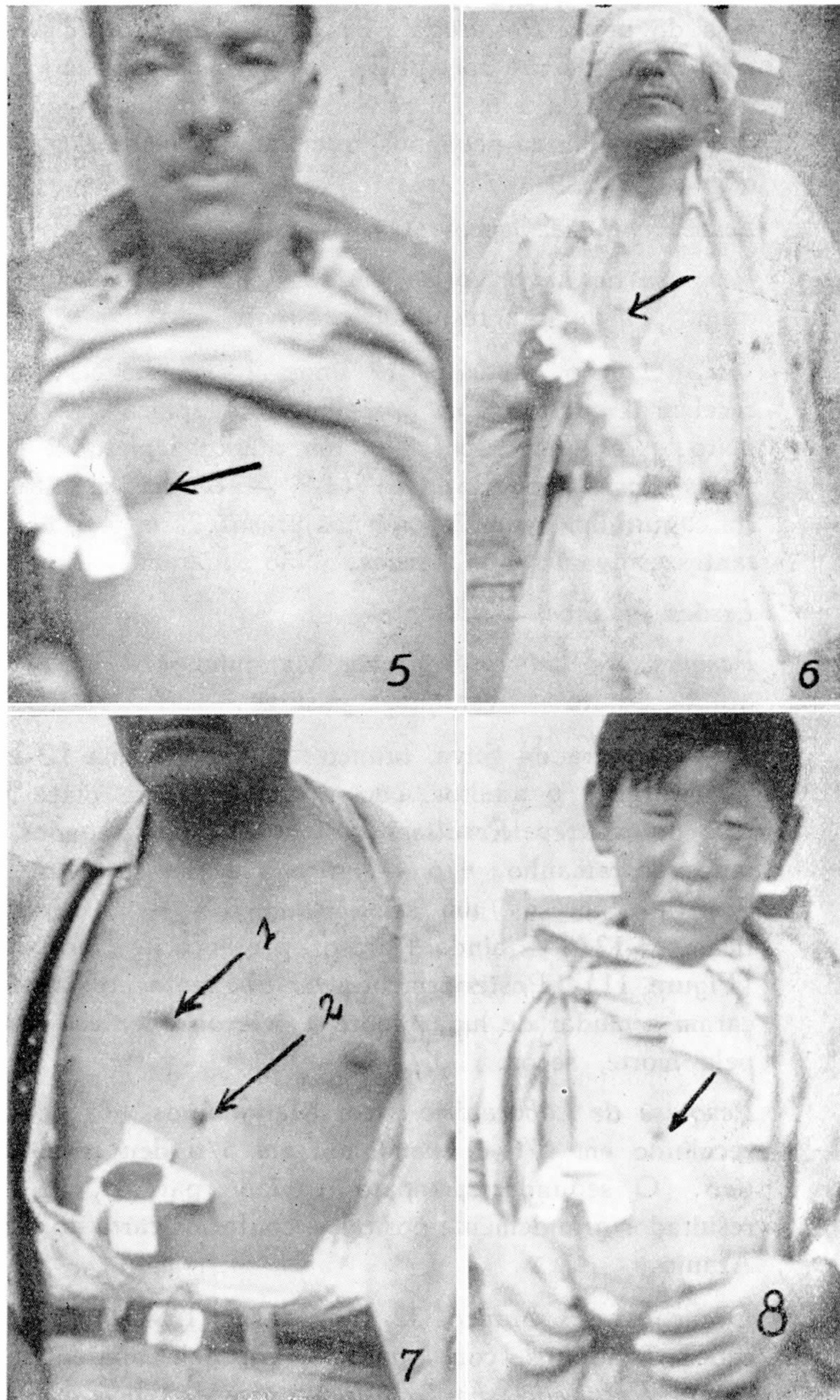
Quarta Turma (2/6/1942)

As experiências com a quarta turma de doentes foram feitas com *Amblyomma cajennense*, trazidos do Norte do Estado pelo Dr. Souza-Araujo, em viagem feita no intervalo dos trabalhos.

Espécie : *A. cajennense*.

Origem : cavalo.

Doente 1 — Alcebiades Pereira, branco, 32 anos, forma L3-N1. Em 2/6, recebeu 6 adultos, com aparelho, sobre placa leproma-



Fotos Dr. Souza-Araujo

Figs. 5-6 — Os doentes José Sá e Alcebiades Pereira (este deu cultura) ao serem retirados deles os carrapatos : *Boophilus microplus*.

Fig. 7 — O mesmo doente Alcebiades mostrando em 1) a lesão produzida por um grupo de 5 *Boophilus* que sugavam no mesmo local, que ficou sangrando e inflamou. Em 2) vê-se um grande *Amblyomma cajennense* que se encheu em 42 horas e 2 exemplares pequenos que continuaram sugando.

Fig. 8 — O leproso japonês Hoisio, repudiado várias vezes pelo *Boophilus*, ficou parasitado pelo *Amblyomma cajennense*, um grande que se encheu em 42 hs. e outros menores que continuaram parasitando.

tosa do peito. *Resultado* : 24 horas depois, apresentava, um semi-cheio, outros dois presos, pequenos e três mortos (fotografia 6). Em 4/6, foi retirado 1 adulto cheio, bem como os dois outros, ainda pequenos, que foram *transferidos para outro doente*.

Lesões cutâneas : presentes.

Pesquisa de Laboratório (em Manguinhos) : em 5/6, com o grande carrapato ; resultado positivo.

Doente 2 — Oscar Hoisio, amarelo, 17 anos, forma L3-N1. Em 2/6, recebeu 3 adultos, com aparelho, sobre placa lepromatosa do peito. *Resultado* : em 3/6, um adulto repleto, 2 pequenos, todos presos (fotografia 8) (4/6 — 1 grande, solto, repleto, foi capturado, ficam 2 pequenos presos. Em 6/6, os dois restantes estavam soltos e secos. Não sugaram.

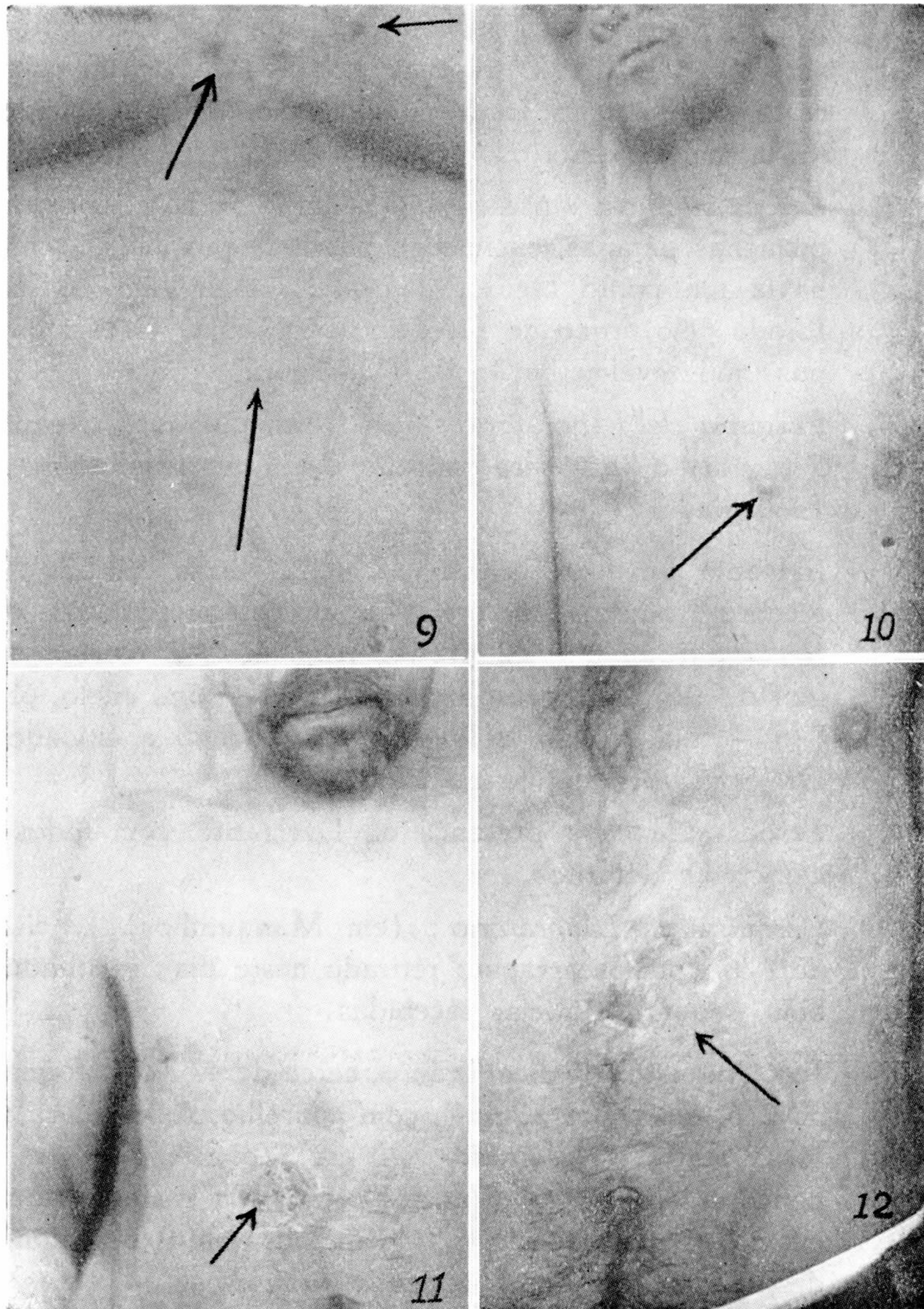
Lesões cutâneas : presentes.

Pesquisa de Laboratório : em Manguinhos. Em 5/6, com o grande adulto — resultado : positivo.

Doente 3 — João Teixeira da Silva, branco, 37 anos, forma L3-N1. Em 2/6, recebeu 6 adultos, com aparelho, sobre placa lepromatosa do ventre. *Resultado* : 3/6 — todos pegados, aumentados de tamanho ; 4/6 — retirada de um, repleto, ficam 5 ; 5/6 — 5 presos, um semi-cheio ; 8/6 — 1 repleto, solto ficam 4 ; 12/6 — ainda 4 presos, *presença de Dermatite* local. (Figura 11). Posteriormente, os carrapatos restantes, começaram a mudar de lugar sobre a pele do doente e terminaram pela morte, secos.

Pesquisa de Laboratório : em Manguinhos. O 1.º carrapato recolhido em 4/6 e examinado em 5/6 deu resultado positivo. O segundo carrapato, enviado para o Rio, forneceu resultados grandemente positivos, conforme carta do Dr. Souza-Araujo.

Doente 4 — Oscar Araujo, branco, 32 anos, forma L3-N1. Em 2/6, recebeu 5 adultos, com aparelho, em pele aparentemente sã, peito. *Resultado* : em 3/6, todos presos, 1 bastante crescido ; em 4/6, idem, retirada de um grande e de outro pequeno, que foi transferido para outro paciente, ficam 3 ; em 8/6, tinha dois presos, apenas, em lugares outros que os escolhidos, antes e, um dos parasitos, desapareceu ; em 10/6, ainda dois



Fotos Dr. R. N. Miranda

- Fig. 9 — João Leinecker, parasitado por 8 ninfas de *Boophilus microplus* que lhe produziram uma dermatite (1.^a verificação deste fato).
- Fig. 10 — S. Levinski : "Após 10 dias de parasitado por *A. cajennense*. Presença de um hematoma, encimado por uma pústula (a pústula é o fenômeno dominante na dermatite em todos os doentes) ; deste local desprende-se uma fêmea completamente cheia".
- Fig. 11 — João Teixeira mostrando a dermatite pustulosa produzida pela picada do *A. cajennense*, 10 dias após colocados os ixódidas, havendo ainda 2 entre as lesões.
- Fig. 12 — O doente O. Araujo mostrando extensa lesão tipo de dermatite pustulosa, 10 dias após a colocação de vários exemplares de *Amblyomma cajennense*.

presos, pequenos; posteriormente, um dos carrapatos morreu seco e o restante foi retirado porque não se fixava em lugar certo, continuando magro. O carrapato desaparecido, antes, foi encontrado morto no leucoplasto.

Lesões cutâneas: presença de uma Dermatite, constituída por pequenas pápulas, encimadas por uma pústula em cujo centro havia um ponto escuro, deprimido, expressão do local perfurado pelo órgão de sucção. (Fig. 12). O esfregaço deste pus, não revelou bacilo de Hansen.

Pesquisa de Laboratório: (em Manguinhos). Realizada em 5/6, com o carrapato retirado em 4/6; resultado: negativo (3 lâminas).

Doente 5 -- Salvador Levinski, branco, 48 anos, forma N3-L2. Em 2/6, recebeu 4 adultos com aparelho, em pele lepromatosa do peito. *Resultado*: 3/6 — 2 presos, pequenos; 2 mortos no leucoplasto; 4/6 — 1 preso, apenas; 5/6 — um, cheio, preso; em 8/6 — um repleto, solto que foi retirado e enviado para o Dr. Souza-Araujo, já no Rio.

Lesões cutâneas: presença da Dermatite, com todos os seus caracteres descritos.

Pesquisa de Laboratório: (em Manguinhos). Feita depois de 8/6, com o carrapato retirado neste dia; resultado: muito bom, segundo notícias recebidas.

Doente 6 — José Augusto Messias, branco, cerca de 42 anos, forma L3-N1. Em 2/6, recebeu 4 adultos, com aparelho, sobre placa lepromatosa, ventre. *Resultado*: — em 3/6 e 4/6 — três presos, pouco crescidos; em 5/6 três presos um bastante aumentado; em 8/6 — um enorme, dois pequenos; em 9/6 — um, grande, desprende, os dois pequenos fugiram (*).

Pesquisa de Laboratório (realizada em Manguinhos com o carrapato retirado em 9/6 e enviado para o Rio). O resultado foi excelente, segundo notícias recebidas do Dr. Souza-Araujo.

Doente 7 — José Mariano Dondeo, branco, 48 anos, L3-N2, em reação leprótica. Em 3/6, recebeu, 2 adultos e 1 ninfa, com aparelho sobre placa reacional na coxa direita. *Resultado*: em

(*) Posteriormente, os dois carrapatos foram vistos, perambulando na sup. cutânea do paciente, sem parada, e sem sugarem, pois continuavam com o porte que tinham quando colocados.

5/6, aparece 1, já grande ; em 10/6 — dois presos, 1 enorme, 1 pequenino, o terceiro morreu, solto e seco. Em 12/6 — idem ; 13/6 — o grande largou, o pequeno fugiu do aparelho, delgado como quando deposto na pele, desaparecendo.

Lesões cutâneas : presentes sob a forma de pápulas pigmentadas, pigmentação esta, resultante da decomposição da hemoglobina, conseqüente à hemorragia intersticial.

Pesquisa de Laboratório (realizada em Manguinhos, com o carrapato retirado a 13/6 e enviado para o Rio). Resultou, o exame, fortemente positivo, conforme notícias enviadas pelo Dr. Souza-Araujo.

Apêndice à Quarta Turma

Lesões cutâneas de Salvador Levinski : Apresentava, no local de picada de um *Amblyomma*, um grande hematoma, saliente, encimado por uma pústula, que dava saída, por seu centro, a liquido sanguino-purulento. Deste caso foi tirada uma fotografia.

Bacterioscopia : negativa, com material da lesão.

Transferência de Carrapatos de um doente para outro.

Em 4/6, o paciente Otavio Veiga, branco, cerca de 30 anos, forma L3-N2, recebeu 3 carrapatos (*A. caj*), pequenos, retirados dos doentes 1 e 4 da *quarta turma*, na mesma ocasião.

Resultado : em 5/6, dois estavam pegados, um morto(este, quando colocado, já estava semi-morto) ; em 8/6, estavam ainda vivos e picando o doente, porem, em vários sítios da pele, circunscrita pelo aparelho de proteção ; no local das picadas, já estava presente o conjunto de lesões da dermatite. Em 10/6, os dois estavam algo aumentados de tamanho. Nos dias seguintes, os dois hematófagos continuaram picando o paciente, porem em sítios diversos, fora mesmo do espaço do aparelho, causando lesões cutâneas aqui e ali. Acabaram por fugir à observação.

Lesões cutâneas : presentes sob a forma descrita para a *Dermatite*. A pesquisa bacterioscópica com o pus das lesões, revelou alguns bacilos de Hansen, isolados.

Conclusão : Os carrapatos (*Amblyomma*), transferidos de um indivíduo para outro, picaram abundantemente o segundo paciente, em muitos sítios de sua superfície cutânea, a ponto, mesmo, de provocar a formação de erupções cutâneas. Do segundo indivíduo, retiraram uma pequena porção de sangue.

Quinta Turma

Em 29/6/1942, foram iniciados os trabalhos de experimentos com uma quinta turma de doentes, feitas com *Boophilus microplus*, colhidos, na véspera, em gado vaccum do Hospital.

Espécie : *Boophilus microplus* (♀).

Origem : boi.

Os trabalhos com esta turma dedicaram-se, mais especialmente, às experiências de transferência dos parasitos, de um doente para outro.

Primeiro turno

Doente 1 — Laudelino Andrade, pardo, 43 anos, forma L3-N1.

Em 29/6, recebeu, 6 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : em 1.º/7 — mortos no leucoplasto, três soltos ; sinais de que estes três picaram. Dos três soltos, um estava cheio, já, e foi capturado para exame, os outros dois, (*) foram capturados e transferidos para outro indivíduo.

Nota — os carrapatos recolhidos, foram enviados para o Rio.

Doente 2 — João Teixeira da Silva, branco, 37 anos, forma L3-N2.

Em 29/6, recebeu, 6 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : 20 horas após, dois carrapatos já estavam cheios soltos (dia seguinte, 30/6) e foram retirados ; os outros 4 estavam presos mas foram despregados e passados para Laudelino de Andrade. (ver *segundo turno*).

Doente 3 — José Augusto Messias, branco, 42 anos, forma L3-N1.

Em 29/6, recebeu 6 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : todos morreram.

Doente 5 — José Siebert, branco, 23 anos, forma L3-N2.

Em 29/6, recebeu 6 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : todos morreram no esparadrapo.

Lesões cutneas : presentes, sob a forma de erupção pápulo-pigmentar.

Doente 5 — José Siebert, branco, 23 anos, forma L3-N2.

Em 29/6, recebeu, 6 adultos, ventre, com aparelho.

Resultado : em 1.º/7 — três, cheios, soltos ; dois pequenos,

(*) Lesões cutâneas em Laudelino Andrade : presentes sob a forma de erupção pápulo-pustulosa (Dermatite).

presos ; um pequeno, solto. Os três cheios foram recolhidos os três restantes, transferidos para Pedro Rudan (ver *segundo turno*).

Lesões cutâneas : presentes (Dermatite).

- Doente 6 — Alcebiades Pereira, branco, 32 anos, forma L3-N1.
Em 29/6, recebeu, 6 adultos, com aparelho, sobre Inf. Leprom.
Resultado : Antes de passadas 24 horas, já tinha dois, cheios e soltos ; três morreram no leucoplasto, fica 1. Os dois soltos foram capturados para ser enviados ao Rio.
Lesões cutâneas : erupção pápulo-pigmentar.
- Doente 7 — Valentim Fagundes, branco, 13 anos, forma L3-N1.
Em 29/6, recebeu, 6 adultos, coxa, com aparelho.
Resultado : em 1.º/7, já tinha três cheios, dois dos quais soltos ; os três foram capturados para ser examinados no Rio. Os outros três carrapatos estavam presos, mas pequenos ; foram arrancados e passados para Salvador Levinski (*segundo turno*).
Lesões cutâneas : erupção pápulo-pigmentar.
- Doente 8 — Sílvério Ferreira Marcondes, branco, 40 anos, forma L3-N2.
Em 29/6, recebeu 6 adultos, com aparelho, sobre o ventre.
Resultado : em 1.º/7, tinha um grande, já solto, que foi recolhido ; três mortos no leucoplasto e dois presos, levemente aumentados de porte, os quais foram arrancados e transferidos para o doente Valentim Fagundes (*segundo turno*).
Lesões cutâneas : presentes (erupção pápulo-pustulosa).
- Doente 9 — Estefano Novacoski, branco, 48 anos, forma L3-N3.
Em 29/6, recebeu 4 adultos com aparelho, no ventre.
Resultado : em 1.º/7, tinha um cheio, que foi recolhido, outro preso, um pouco aumentado ; os quatro restantes desapareceram. O carrapato que estava preso foi arrancado e passado para o doente Primo Bomfatti (*segundo turno*).
Lesões cutâneas : Erupção pápulo-pigmentar, leve.
- Doente 10 — Primo Bomfatti, branco, 45 anos, forma L3-N2.
Em 29/6, recebeu 6 adultos, ventre, com aparelho.
Resultado : em 1.º/, tinha, já, dois repletos e soltos que foram capturados para exame posterior ; os quatro restantes morreram presos ao leucoplasto (ver *segundo turno*).
Lesões cutâneas : presente uma erupção pápulo-pigmentar.
- Doente 11 — Pedro Rudan, (pertence à turma do *segundo turno*).

Segundo Turno

Todos os carrapatos procedentes do pessoal do turno primeiro e que não foram capturados para exame posterior, foram transferidos para um segundo paciente, aproveitando-se os do mesmo grupo em observação. *Importante* : Os carrapatos capturados do primeiro turno foram enviados para o Rio, em avião, em 6/7/42. Os resultados do exame estão com o Dr. Souza-Araujo.

Doente 1 — Laudelino de Andrade.

Recebeu, em 1.º/7, quatro semi-cheios de João Teixeira.

Resultado : o doente abandonou as experiências.

Doente 2 — Salvador Levinski.

Recebeu, em 1.º/7, três carrapatos procedentes de Valentim Fagundes.

Resultado : todos pegaram, sugando durante dois dias, largando, após, cheios de sangue.

Doente 3 — Pedro Rudan, branco, 26 anos, forma L3-N1.

Em 1.º/7, recebeu três carrapatos pequenos, procedentes de José Siebert.

Resultado : em 3/7, tinha um, cheio e solto, dois mortos no esparadrapo.

Doente 4 — Valentim Fagundes.

Recebeu, em 1.º/7, dois carrapatos de Silvério Marcondes.

Resultado : sugaram, durante dois dias, largando semi-cheios.

Doente 5 — Primo Bomfatti.

Em 1.º/7, um carrapato, procedente de Estefano Novacoski.

Resultado : o aracnídeo morreu.

Nota : Os carrapatos capturados dos pacientes do segundo turno foram enviados para o Rio, em 10/7/42, por via aérea.

Observação : Decididamente, os "*Boophilus*" sugaram dois doentes em um mesmo período de seu desenvolvimento. Os primeiros doentes foram sugados, cerca de 40 horas; os segundos, outro período de tempo aproximado ao primeiro.

Conclusões

Das experiências feitas no Hospital Colônia São Roque, em doentes internados, utilizando carrapatos dos gêneros *Boophilus* e *Amblyomma* pode-se extrair o seguinte.

- 1.^a conclusão — Os carrapatos dos gêneros *Boophilus* e *Amblyomma*, colocados propositadamente sobre os doentes, com aparelho de proteção ou não, parasitaram positivamente estes indivíduos, com maior facilidade os do gênero *Amblyomma*, e quando protegidos com aparelho.
- 2.^a conclusão — Interessante foi a obtenção do parasitismo, francamente conseguido, com *Boophilus microplus* sobre o homem porque espontaneamente, este parasitismo no homem é raro no Hospital (onde existe abundante gado vaccum) ; tendo sido assinalado, quando espontâneo, apenas duas vezes.
- 3.^a conclusão — Quase 100 % dos "*Boophilus*" colocados picavam o homem.
- 4.^a conclusão — No homem, o *Boophilus* pode ficar repleto em 24 ou menos horas. Quando cheios, largam a pele parasitada. Outros levam 2, 3 ou mais dias para o repasto e, quando não ficam cheios neste espaço de tempo, não largam a pele, mesmo depois de 10 dias. Estas divergências estão, certamente condicionadas ao estado da pele do doente e aos traumatismos exercidos sobre o aparelho de sucção do parasito na captura do animal de origem.
- 5.^a conclusão — O *Boophilus* pica o paciente em vários sítios, especialmente quando não fica cheio, logo. Segundo a afirmativa de um doente, pica com mais intensidade de noite.
- 6.^a conclusão — Depois de retirados dos doentes, quando cheios, os *Boophilus* resistem vivos à temperatura ambiente e invernos (chegando até 0°C), durante 4, 5 dias.
- 7.^a conclusão — Também os *Amblyomma*, picaram cerca de 100 % os doentes, e com maior fixidez de lugar que os *Boophilus*.
- 8.^a conclusão — As fêmeas de *Boophilus* foram as que melhor se prestaram às experiências e, além das ninfas, foram o sexo utilizado nos trabalhos.
- 9.^a conclusão — Também os *Amblyomma* podiam ficar repletos em 24 h, sobre os doentes. Deve-se esta rapidez na repleção talvez a dois fatores : um, ligado à diferença de estrutura e espessura entre a pele humana e a do animal de origem dos parasitos (boi e cavalo), sendo mais facil, portanto, picar a pele humana ; outro, ligado, com toda a certeza, à abun-

dante circulação da pele leprosa em consequência mesmo do processo leprótico (foram escolhidas sempre placas lepromatosas), pois um dos característicos do leproma é a sua riqueza em vasos (Hansen e Looft).

- 10.^a conclusão — Tal como no gênero *Boophilus*, os *Amblyomma*, quando se não enchiam nos primeiros dias, mudavam de lugar e ficavam perambulando sobre a pele do doente, picando aqui e ali, até conseguirem algum sangue ou secarem.
- 11.^a conclusão — A pesquisa bacterioscópica em conteúdo abdominal dos carrapatos que sugaram os leprosos foi positiva no Hospital, duas vezes e, muitas vezes, quando efetuada em Manguinhos. Positiva tanto para os *Amblyomma* como para os *Boophilus*.
- 12.^a conclusão — Foi possível, com pleno êxito, a transferência de carrapatos que sugaram um doente, para outro doente, continuando o Aracnídeo, a sugar e picar em muitos sítios o segundo indivíduo. A passagem efetivou-se tanto com o gênero *Amblyomma* (uma vez que foi tentada com 3 exemplares), como com o gênero *Boophilus* (três vezes em cinco tentativas).
- 13.^a conclusão — Observou-se, pela instalação de *Boophilus* ou *Amblyomma*, sobre a pele dos leprosos, a produção de fenômenos reacionais de duas ordens, todos locais. Na primeira ordem estão os fenômenos hemorrágicos, sob a forma de hemorragia externa, pelo orifício da picada ou hemorragia intersticial em redor deste orifício; na segunda ordem, estão os fenômenos inflamatórios, representados pela formação de máculas congestivas (associadas, então, à hemorragia intersticial), formação de pápulas, vesículas e, ainda, pústulas tudo sobre o sítio das picadas do parasito. Este conjunto de erupções, foi de tal forma constante e definido, que nos permitiu a descrição de uma "Dermatite por Ixodídeos", feita mais adiante.

De uma maneira estatística, a observação sobre 8 doentes parasitados por *Amblyomma*, revelou 7, com a erupção; sobre 9, parasitados por *Boophilus*, revelou 8 com a erupção.

APÊNDICE

Reações Cutâneas da pele dos Hansenianos às picadas de Ixodídeos.

Da observação feita com os gêneros *Amblyomma* e *Boophilus*, parasitando os leprosos, constatou-se a presença de reações cutâneas de duas ordens : hemorrágicas e inflamatórias. É, como indica o raciocínio, natural uma reação, por parte dos tegumentos, à incidência de agentes estranhos à pele, não só com o seu poder traumático, como também, e este é o nosso caso, com o seu poder tóxico. São descritos já, os fenômenos reacionais consequentes às picaduras por *Ixodes ricinus*, sob o nome de *Ixodismo*, tratando-se, mais, de reações urticariformes. São descritos, também, os fenômenos reacionais às picaduras de *Argas persicus*, quer locais como gerais ; porem os autores todos consultados, referem erupções papulosas e pruriginosas ; quando muito, citam a formação de vesículas. Em relação a este último parasito, J. D. Tholozan, citado por Kaposi, à pág. 922 da tradução francesa do seu tratado, refere, ainda, acidentes gerais, graves, tifoídes e coleriformes, muitas vezes mortais, em consequência das picadas do hematófago. Segundo Brocq o *Leptus autumnalis* produz uma ligeira inflamação na pele, caracterizada por eritema, edema, prurido e às vezes vesículas e pústulas. As lesões produzidas pelo mucuim, segundo Salounie-Ipin, podem terminar numa erupção de pústulas comparavel ao ectima. Em relação a outras espécies, vários autores referem pequenos fenômenos reacionais, predominando o prurido e caracterizados pela fugacidade, bem como a febre por mordeduras de carrapatos, de natureza desconhecida a sua etiologia.

Nas nossas observações, entretanto, a frequência e a intensidade dos fenômenos de reação, tratando-se sempre de leprosos, foi tão marcante que nos levou a buscar a literatura sobre o assunto e a dar uma especial atenção aos fatos. A verdade é que, de todos os autores consultados, tirou-se a conclusão que, reações tais eram estranhas, não sabemos se ligadas à condição de doença dos indivíduos observados ou a alguma particularidade dos parasitos.

Alem dos fenômenos hemorrágicos, intensos, que foram observados, sob a forma de hemorragias filiformes pelos orifícios de picada dos carrapatos e hemorragias intersticiais, tornando, de certo modo, purpúricas as erupções, o mais interessante foi o conjunto das reações inflamatórias.

Às simples picadas, passageiras dos parasitos, a pele reagia com a formação de pequenas máculas ou pápulas pruriginosas ; mas, depois da instalação dos hematófagos, permanentemente, por mais de um dia sobre um determinado local da pele dos leprosos, produziam-se fenômenos intensos e constantes que julgamos até que devíamos designá-los sob o nome de "Dermatite por Ixodídeos em doentes de Lepra".

Esta Dermatite era constituída por pústulas, do tamanho daquelas das febres eruptivas, com um ponto negro e deprimido no centro, indicando o local de perfuração, pústulas estas assentadas sobre pápulas ou máculas congestivo-hemorrágicas, pouco maiores que a superfície das pústulas. A erupção era pruriginosa, persistindo alguns dias após a retirada dos parasitos, quando se dava a dessecação e descamação. Os fenômenos *prurido* e *pigmento*, continuavam presentes muitos dias depois de cessados os característicos inflamatórios.

Em um dos casos, deu-se a formação de um hematoma sob a pústula, ou melhor, a pústula que sempre era secundária à congestão e hemorragia, assentou-se sobre um pequeno tumor hemorrágico.

As fotografias que ilustram os trabalhos, podem dar uma idéia objetiva da intensidade destas reações.

A pesquisa bacterioscópica destas pústulas, feita 3 vezes, revelou, uma vez, bacilos de Hansen, isolados e poucos.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANDREWS, G. C.
1930 Diseases of the Skin. Ticks, p. 795.
- 2 — BARBE, C.
1901 Maladies de la Peau, p. 126.
- 3 — BROCCQ, L.
1921 Précis-Atlas de pratique dermatologique, p. 251.
- 4 — BRUMPT, E.
1936 Précis de Parasitologie, p. 1.211.
- 5 — DARIER, E.
1935 Compendio de Dermatologia, tradução espanhola, p. 621.
- 6 — DU CASTEL
1930 Dermatologie, Collection Sergent, p. 565.
- 7 — GREENWAY, DIEGO
1942 Zooparasitos y Zooparasitosis Humanas. Cap. Ixodídeos
- 8 — GUIART, J. & ABDON, LINS
1941 Compendio de Parasitologia, Cap. Ixodídeos.
- 9 — HANSEN & LOOFT
1895 A Lepra, tradução da Rev. Bras. Leprol., Vol. X (1942).
- 10 — JEANSELME, ED,
1904 Dermatologie Exotique, p. 305.
- 11 — KAPOSI, M.
1891 Maladies de la Peau, p. 922.
- 12 — PINTO, CESAR
1930 Arthropodes Parasitos e Transmissores de Doenças.
- 13 — ROST, C. A.
1936 Enfermedades de la Piel, Cap. Doenças Parasitárias.
- 14 — SALOUNIE-IPIN
1919 Maladies de la peau, in Grall et Clarac, Traité de pathologie exotique, Vol. 7, p. 44.
- 15 — TACHAU, PAUL
1937 Diagnóstico Diferencial das Moléstias da Pele e Venéreas, Trad. Brasileira.

II PARTE

Estudos e pesquisas realizados no Instituto Oswaldo Cruz com carrapatos infectados em leprosos do Paraná

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo

No dia 5 de junho último regressei do Paraná, trazendo em avião, comigo, dois lotes de ixodídeos infectados experimentalmente em leprosos, conforme consta dos protocolos da primeira parte deste trabalho. Um desses lotes compunha-se de exemplares adultos, e raras ninfas, de *Boophilus microplus* e o outro de exemplares adultos de *Amblyomma cajennense*, que capturei em cavalos e muares de Caeté, no Norte do Paraná, para as experiências, visando confirmar os estudos que fiz anteriormente. As experiências com essas duas espécies de ixodídeos serão descritas separadamente, para maior clareza.

Estudos com o "Boophilus microplus"

Os exemplares de *Boophilus* chegaram todos vivos e foram, no dia 6 de junho, lavados com soluto a 10 % de soda cáustica e duas vezes com água destilada esteril, nos próprios tubos de hemolise em que vieram, e depois triturados em tubos especiais, um para os exemplares de cada doente. Os triturados foram emulsionados num pouco de água destilada esteril, para lisar os eritrocitos, em seguida centrifugados durante 40 minutos, com duas mudanças do líquido.

Os exames microscópicos desses sedimentos deram os seguintes resultados: fracamente positivos, raros bacilos a. a. r., para os ixodídeos dos doentes J. Sá, J. Dondeu, F. Ramtun (2 lotes), A. Péres e B. Cardoso. Outros lotes dos mesmos doentes J. Sá e B. Cardoso e mais os de J. Rosa, revelaram abundantes bacilos, isolados e em feixes.

Culturas — No mesmo dia 6 de junho semeei os sedimentos dos carrapatos dos 9 tubos, referentes aos doentes acima, em 72 tubos de meio de Loewenstein, à razão de 8 para cada amostra. O meio estava um pouco velho e raros tubos com água de condensação.

Resultado — A 28 de julho um dos 8 tubos semeados com sedimentos dos carrapatos de F. Ramtun apresentou o desenvolvimento duma cultura alaranjada, pura de bacilos a. a. r., adiante estudada. Os demais tubos, em número de 71, até 19 de agosto continuavam estereis. Nesse dia foram descartados os que secaram.

Inoculação — Com o resto dos sedimentos, reunidos e emulsionados em soro fisiológico, inoculei 5 ratos brancos (Lote 39), que continuam em observação, desde 6 de junho. Cada murídeo recebeu 1 cc da emulsão, por via subcutânea, na axila direita, método que venho adotando para as passagens da doença de Stefansky.

No dia 9 de julho recebi de Curitiba os carrapatos de bovídeos referentes à 5.^a turma de enfermos submetidos à experiência. Esta turma foi parasitada pelo Dr. R. N. Miranda, que me diz em sua nota acompanhante: "Carrapatos (B. m.) colhidos de sobre leprosos após 20 e 34 horas de repasto, apenas!" Esses carrapatos, em número de 14, vieram em 8 tubos de hemólise, com os nomes dos doentes abaixo relacionados, todos casos L3, segundo o Dr. Ruy Noronha.

Após o tratamento preliminar, como foi descrito acima, esses ixódidas foram triturados e examinados no mesmo dia 9 de julho, com os seguintes resultados:

O sedimento dos 2 carrapatos de L. Andrade revelaram alguns bacilos isolados e um feixe; o dos dois de João Teixeira estava bastante rico; um 2.^o exame do mesmo revelou 6 feixes de bacilos e uma globia; o sedimento do exemplar de J. Sibert foi negativo; o dos dois exemplares de Alcebiades Pereira foi negativo no 1.^o exame e no 2.^o exame foram descobertos alguns bacilos isolados e dois feixes; o sedimento dos três parasitos de V. Fagundes foi positivo (raros bacilos) no 1.^o exame e negativo no 2.^o; o sedimento dos dois parasitos de S. Marcondes revelou raros bacilos no 1.^o exame e nenhum no 2.^o; o sedimento do único exemplar de E. Novacoski revelou raros bacilos, assim como o do parasito de P. Bonfati.

Culturas — Cada sedimento destes 8 lotes de *Boophilus* foi semeado em 9 tubos de Loewenstein. Total 72. Esteréis até 19 de agosto.

Inoculação — O resto dos 14 sedimentos foi emulsionado e misturado numa mesma seringa e inoculado, na dose de 1 cc, em 10 ratos brancos, no mesmo dia 9 de julho (Lote n. 45).

A 18 de agosto (5 semanas após a inoculação) morreu um desses 10 ratos, cuja autópsia revelou hipertrofia dos gânglios axilares do lado inoculado e os esfregaços do fígado, pulmão, baço e rim foram positivos para bacilos a. a. r., sendo que o esfregaço do rim foi surpreendentemente rico. As emulsões dos gânglios e do baço foram semeadas em 12 tubos de Loewenstein fresco. Essas emulsões foram positivas ao exame microscópico, porem com menor riqueza que os esfregaços dos órgãos.

Os 9 ratos restantes continuam bem.

Outros 6 exemplares adultos de *Boophilus* foram recebidos de Curitiba, por avião, a 13 de julho e conservados vivos, na temperatura ambiente, até o dia 17, enquanto se preparava o meio de Loewenstein. Nesse dia foram triturados, após as lavagens acima descritas. Os seus triturados não foram hemolisados nem centrifugados.

O exame do triturado dos 3 exemplares de S. Levinski revelou abundantes bacilos isolados e raras globias. Esse triturado foi semeado, *in natura*, em 15 tubos de Loewenstein. O exame do triturado do parasito de Pedro Rudan revelou abundantes bacilos isolados, uma globia e uma massa compacta de bacilos, semelhante esfregaço de cultura. Esse triturado também foi semeado em 15 tubos de Loewenstein. O exame do triturado dos dois parasitos de V. Fagundes revelou também abundantes elementos a.a.r. sob a forma de bacilos homogêneos e fragmentados, cocoides ou em globias. Como era pobre o triturado, fez-se dele uma emulsão, que foi semeada em 5 tubos de Loewenstein.

O material deste lote foi insuficiente para inoculações.

Culturas — Os repetidos exames macroscópicos das sementeiras me revelaram, a 5 de agosto, a germinação numa cultura amarela, de aspecto úmido e espalhada na parte inferior do meio, num só dos 15 tubos semeados com o material de Pedro Rudan. Os 5 tubos de Fagundes se contaminaram no 3.º dia e foram desprezados. Até 19 de agosto continuavam estereis os demais 14 tubos de Rudan e os 15 de Levinski. A cultura de Rudan vai descrita adiante.

Estudos com o “*Amblyomma cajennense*”

Os exemplares de *Amblyomma cajennense* que obtive em Caeté foram por nós. Ruy e eu, colocados, a 2 de junho, em vários leprosos do Hospital Colônia de Piraquara, e após os terem sugado durante 42 horas, foram por mim retirados dos doentes, depois de tê-los fotografado *in loco*. Trazidos para o Rio, foram triturados, 4 dias depois, a 8/6, emulsionados e centrifugados. Tratava-se de grandes exemplares completamente repletos de sangue dos doentes. Os exames microscópicos dos seus sedimentos deram os seguintes resultados : positivos, sem grande riqueza, para os exemplares de A. Pereira, O. Hoisio e João Teixeira e negativo para o de O. Araujo.

João Teixeira e o japonês Hoisio já tinham sido submetidos a reiteradas tentativas de parasitismo pelo *Boophilus*, informou-me o enfermeiro Roberto, sem nenhum sucesso, e, entretanto, foram parasitados imediatamente pelos exemplares de *Amblyomma*, com resultados positivos.

Culturas — Cada sedimento destas quatro amostras de material leproso foi semeado a 8 de junho em 9 tubos de meio de Loewenstein. Os resultados que seguem são os mais encorajadores até hoje obtidos no meu laboratório. A 29 de junho (21.^o dia da semeadura) 3 dos 9 tubos de Loewenstein semeados com o sedimento dos *Amblyommæ* infectados no enfermo Alcebiades Pereira apresentavam germinação sob a forma de pequenas colônias circulares, de aspecto rugoso e cor alaranjada.

A 15 de julho (5.^a semana) um dos 9 tubos do dito meio semeado com o sedimento dos ixódidas infectados em João Teixeira apresentava 7 colônias isoladas, circulares, de aspecto e cor das acima citadas. O exame microscópico dessas culturas provaram estarem elas puras e serem de germes ácido-álcool resistentes. A 18 de julho foram repicadas.

Os restantes 32 tubos desta série de semeaduras continuavam estereis até 19 de agosto.

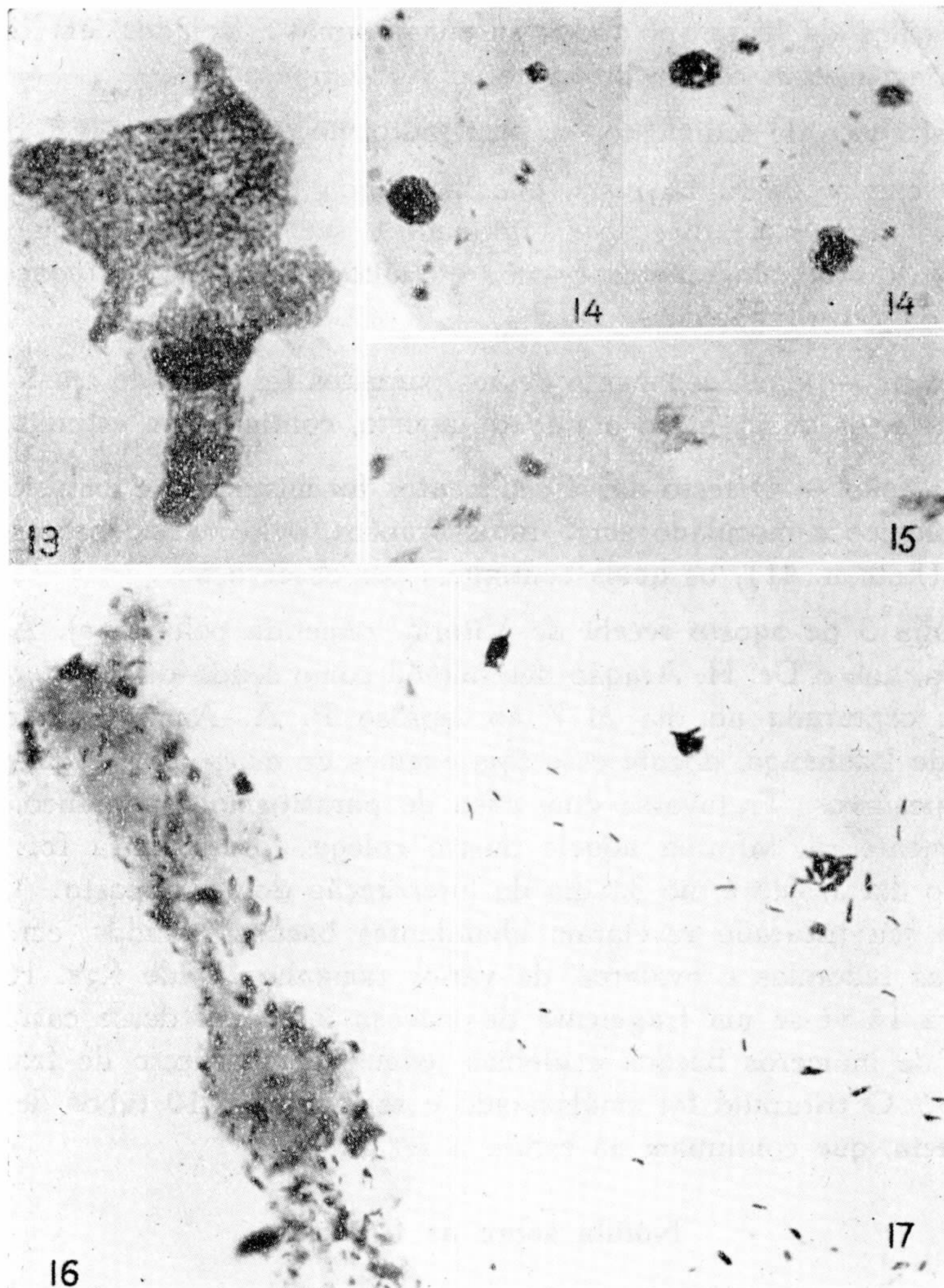
Inoculação — O restante dos sedimentos desses carrapatos foi emulsionado e inoculado no mesmo dia 8 de junho em 5 ratos brancos, que continuam sob constante observação.

Com mais um lote de *Amblyommæ* recebi a 19 de junho, o seguinte bilhete do Dr. R. N. Miranda: "Vão 4 carrapatos cheios. Todos de doentes lepromatosos da 4.^a turma. Todos, também, largaram espontaneamente". Eram 4 dos carrapatos "estrela" que fui buscar no Norte do Paraná e que colocamos pessoalmente, no dia 2 de junho, sobre a pele dos leprosos abaixo nomeados, protegidos com o aparelho de contenção que inventei.

Foram eles triturados e examinados no dia que aqui chegaram, 19/6, com os seguintes resultados, muito instrutivos. O de J. Dondeu, que lhe sugou durante 11 dias, de 2 a 13/6, e triturado 6 dias após ter terminado o seu repasto, deu esfregaços muito ricos em germes a. a. r.

O preparado do triturado era rico em bacilos isolados e em globias; entretanto, o esfregaço do sedimento, após duas centrifugações e duas lavagens do sedimento com água destilada esteril, se mostrou paupérrimo em bacilos e com ausência de globias, o que parece paradoxal. O exemplar de José Messias sugou-lhe durante 7 dias (2 a 9/6) e, triturado e examinado 9 dias após a sua captura, revelou, no esfregaço do triturado, um campo microscópico com 9 feixes de bacilos e, no esfregaço do sedimento, muitos bacilos isolados e 3 massas compactas de bacilos semelhante uma preparação densa de cultura.

O exemplar de José Teixeira, que lhe sugou durante 6 dias (2 a 8/6) e examinado 11 dias após a captura, revelou, no esfregaço do triturado, abun-



Microfotos de J. Pinto

- Fig. 13 — Esfregaço do sedimento do *A. cajennense* que sugou durante 11 dias o doente José Dondeu (colocado a 2/6 largou-o a 13/6) e foi triturado a 19/6. Massa de bacilos igual às da est. 1, figs. 6 a 12 de 2.^a Nota, material de *Boophilus microplus*.
- Fig. 14 — Várias globias adultas e outras jovens de um só campo microscópico de esfregaço do mesmo carrapato de Dondeu. Globias e massas indicam multiplicação do bacilo no organismo do carrapato.
- Fig. 15 — Esfregaços de *A. cajennense* que sugou durante 6 dias o doente José Teixeira (colocado a 2/6 largou-o a 8/6 e foi triturado a 19/6. Presença de muitos bacilos isolados, em feixes e globias jovens.
- Figs. 16-17 — Dois campos dum esfregaço do triturado duma ninfa de *A. cajennense* retirada pelo Dr. Soares (Colônia de Itanhenga) do doente P. A. Amaral, caso lepromatoso mas o ixódida sugou em pele aparentemente sã. Foi triturado 3 dias após a captura. Em 16 vê-se um fragmento de mucosa intestinal incrustado de globias, feixes e bacilos isolados.

dantes bacilos da lepra sob todas as suas formas : isolados, em feixes, em globias e em massas compactas como se vê na figura 13.

O esfregaço do sedimento foi, entretanto, negativo.

O exemplar de S. Levinski, que lhe sugou durante 6 dias (2 a 8/6), examinado também 11 dias após terminado o seu repasto, revelou no esfregaço do triturado abundantes bacilos e muito poucos no esfregaço do sedimento da centrifugação.

Culturas — Cada sedimento desses parasitos foi semeado em 8 tubos de Loewenstein, os quais, até o dia 19 de agosto, continuavam estereis.

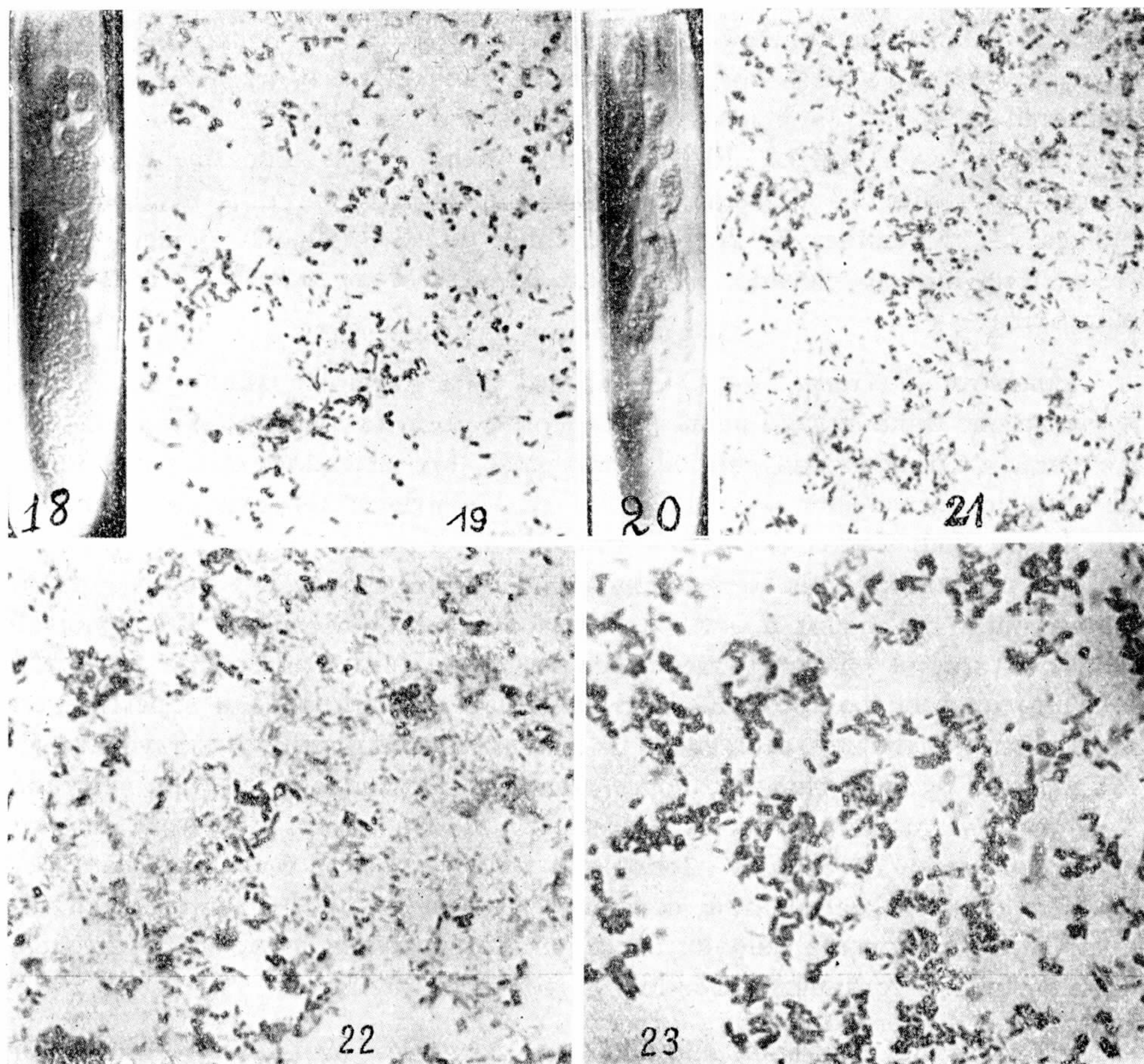
Inoculação — O resto dos 4 sedimentos foi misturado e emulsionado em soro fisiológico e inoculado em 5 ratos brancos, pelo mesmo processo acima descrito (Lote n. 41), os quais continuam em observação.

No dia 3 de agosto recebi de Vitória, remetida pelo Dr. J. A. Soares, uma ninfa, que o Dr. H. Aragão determinou como sendo de *Amblyomma cajennense*, capturada no dia 31/7 no leproso P. A. Amaral, internado da Colônia de Itanhenga, doente esse com exames de muco, pele e gânglios fortemente positivos. Tratava-se dum caso de parasitismo espontâneo, em pele aparentemente sã, informa aquele ilustre colega. Essa ninfa foi triturada no mesmo dia 3, isto é, no 3.º dia da interrupção do seu repasto. Os esfregaços do seu triturado revelaram abundantes bacilos isolados, em feixes e em globias redondas e ovalares, de vários tamanhos (vide figs. 16 e 17). Na figura 16 vê-se um fragmento de mucosa intestinal desse carrapato incrustado de inúmeros bacilos e globias jovens, com aspecto de franca multiplicação. O triturado foi emulsionado e semeado em 10 tubos de meio de Loewenstein, que continuam na estufa a 37° C.

Nótula sobre as Culturas

Pela ordem cronológica em que foram sendo obtidas, passo a descrever, em brevíssima nota prévia, as culturas que consegui, semeando, em meio de Loewenstein, sedimentos de carrapatos infectados em leprosos do Paraná.

Culturas de Amblyomma cajennense — *Amostra "Alcebiades"*. O sedimento dum carrapato dessa espécie, que sugou o doente Alcebiades Pereira, sobre lesão lepromatosa do peito, durante 42 horas, tendo sido arrancado à força por mim, para exame, foi semeado a 8/6 em 9 tubos de Loewenstein, e a 29/6 (21.º dia) 3 deles apresentavam início de germinação, sob a forma de pequenas colônias circulares, de cor alaranjada. O exame microscópico duma dessas colônias revelou tratar-se duma cultura pura de bacilos a. a. r. Foi então repicada noutros tubos do mesmo meio. A figura 18 mostra o aspecto



Fotos e microfotos de J. Pinto

- Figs. 18 e 19 — Aspecto macro e microscópico da cultura dum bacilo a. a. r. obtida do sedimento dum *Amblyomma cajennense* que sugou 42 horas no doente Alcebiades Pereira (L3-N1) e foi sacrificado 4 dias após a captura. Início de germinação no 21.º dia.
- Figs. 20 e 21 — Aspectos macro e microscópico da cultura dum bacilo a. a. r. obtida do sedimento dum *A. cajennense* que sugou 42 hs., no doente João Teixeira (caso L3-N1), sacrificado 4 dias após a captura. A germinação teve início no 33.º dia.
- Fig. 22 — Microfotografia da cultura dum bacilo a. a. r. obtida do sedimento dum *Boophilus microplus* que sugou o doente Pedro Rudan, e foi triturado a 17/7 e a germinação teve início a 5/8. Cultura amarela cor de gema de ovo, enquanto as outras três são de cor alaranjada.
- Fig. 23 — Esfregaço da cultura dum bacilo a. a. r. obtida do sedimento dum *Boophilus microplus* que sugou 7 dias no doente Fred Ramtun. Retirado do doente a 2/6 foi triturado a 6/6 e a germinação estava exuberante no 52.º dia. Cultura cromogênica semelhante à da amostra "José".

macroscópico da cultura, 2.^a geração, sob a forma duma aglomeração de colônias circulares do tamanho de grandes cabeças de alfinetes, que se fundiram para formar uma espécie de inducto elevado, seco, irregular e de cor alaranjada. A fig. 19 é uma microfotografia dessa cultura : bacilos longos e curtos, todos a. a. r. A 20/8 a cultura original, um tubo que nunca foi aberto, apresenta 13 colônias circulares, umas isoladas e a maioria conglomerada. A cultura de 2.^a geração cobre quase totalmente o meio, sob a forma dum inducto elevado, pregueado, granuloso, de aspecto luzidio e cor alaranjada.

Amostra "Teixeira" — O sedimento dum exemplar adulto do *A. cajennense* que tinha sugado numa placa lepromatosa do abdome do doente João Teixeira, e arrancado da pele 42 horas após, foi semeado a 8/6 em 9 tubos de meio de Loewenstein. A 11/7 (33.^o dia) um deles apresentava 7 colônias circulares, umbilicadas e de cor alaranjada. Pescada um dessas colônias a 18/7 para repicagens, o seu exame microscópico revelou tratar-se duma cultura pura de bacilos a. a. r. A figura 20 mostra o aspecto macroscópico dessa cultura, já em 2.^a geração (pois o tubo de 1.^a geração o fotógrafo J. Pinto quebrou ao fotografá-lo), ainda não cobrindo toda a superfície do meio como atualmente acontece. O seu aspecto é granuloso ou verrucoso, fundindo-se os seus elementos para constituir um inducto irregular, elevado e de cor alaranjada. A microfotografia 21 mostra bacilos de forma idêntica aos da amostra "Alcebiades", todos a. a. r. As amostras da 3.^a geração (repicagem de 6/8) germinaram com mais exuberância, sob a forma dum inducto amarelo, camada delgada abrangendo quase toda a superfície do meio e intermeada de grânulos redondos, de cor mais intensa.

Culturas de Boophilus microplus — *Amostra "Ramtun"* — Dois ixódidas adultos desta espécie postos a sugar no leproso Frederico Ramtun foram dele retirados a 2/6, após um repasto de 7 dias. Triturados 4 dias depois, a 6/6, o seu sedimento foi semeado em 8 tubos de Loewenstein. Um desses tubos a 28/7 (52.^o dia) apresentava germinação duma colônia circular, elevada, cromogênica, que a 10/8 tinha o tamanho duma lentilha. Foi nesse dia repicada, e examinada se mostrou pura : elementos bacilares maiores que os habituais, bastante ácido-álcool resistentes. A microfotografia, aumentada de cerca de 1.800 vezes, mostra essa cultura na figura 23.

A 20/8 a cultura original apresenta germinação sob a forma de delgada camada cor de ouro na superfície do meio e nas suas bordas subindo as paredes do tubo como raios. A 2.^a geração desta cultura, hoje 20/8 com 10 dias, está germinando lentamente em 4 tubos de Loewenstein, por enquanto sob a forma de tênue camada amarelada.

Amostra "Rudan" — O sedimento dum *Boophilus* adulto, que se infectou no leproso Pedro Rudan e foi triturado a 17/7, foi semeado em 15 tubos de Loewenstein. Um destes tubos apresentou, a 5/8 (19.^o dia), início de germinação dum cultura em delgada camada amarela cor de gema de ovo, de aspecto úmido, que foi repicada a 10/8. O seu esfregaço, feito nessa ocasião, revelou tratar-se de uma cultura de germes ácido-álcool resistentes, pleomórficos, representados na microfotografia da figura 22. A 20/8 a cultura original apresenta-se sob a forma dum delgada camada amarela e brilhante, cobrindo toda a superfície do meio, camada essa superposta por outra, elevada, constituída por colônias circulares que se fundiram, as quais são de cor amarela, com tendência para o alaranjado. A 2.^a geração desta cultura com 10 dias (repicagem de 10/8), cobre 2/3 da superfície do meio, sob a forma dum inducto amarelo vivo, de aspecto luzidio e brilhante.

Estas quatro novas culturas vão ser agora reexaminadas e, se continuarem puras, serão repicadas nos vários meios próprios para germes ácido-álcool resistentes e inoculadas em cobaias e ratos brancos.

COMENTÁRIOS

A 3.^a conclusão da minha primeira nota sobre o assunto deste trabalho diz : "Se o *Amblyomma* trocar de hospedeiros durante os seus repastos de sangue, que necessita para a sua evolução, poderá ser um vector ocasional da lepra". Lendo essa conclusão o biólogo Dr. Fabio Werneck, meu ilustre colega do Instituto Oswaldo Cruz, apressou-se em me informar que, nas suas caçadas de antas (*Tapirus americanus*) em Mato Grosso, para colheita de parasitos, enquanto ele necropsiava esses animais, era assaltado por milhares de exemplares de *Amblyomma cajennense*, que abandonavam o hospedador morto e procuravam parasitar outro, vivo. Eis aí uma prova cabal de que esse carrapato, o mais disseminado na zona rural de todo o Brasil, troca de hospedador durante a sua hematofagia. Aliás eu fiquei propenso a admitir isso, quando, em agosto de 1941, voltei da Colônia Santa Isabel (Minas Gerais), parasitado por 3 ninfas daquele ixódida, uma das quais com bacilos a. a. r., a que me sugava na face interna do punho esquerdo, e que provavelmente se transferiu dum doente qualquer enquanto eu puncionava os seus gânglios inguinais.

Em maio deste ano verifiquei na Colônia de Itanhenga (Espírito Santo), outro fato interessante. O Dr. J. A. Soares encontrando preso à sua perna um carrapato, arrancou-o e colocou-o na coxa dum leproso acamado. 50 horas após eu arranquei esse parasito do doente, com muita dificuldade, e o trouxe para examinar em Manguinhos. Tratava-se dum fêmea de *A. ca-*

jennense, a qual tentei fazer picar um hamster (*Cricetus auratus*), sem sucesso.

Durante essa experiência o carrapato defecou na palma da minha mão esquerda, e as suas fezes, uma gota de matéria leitosa que eu colhi com um vacinostilete e esfreguei numa lâmina nova. (Para estudos experimentais, assim como para o diagnóstico da lepra, só uso lâminas novas e absolutamente limpas e corantes frescos e filtrados). O exame desse material revelou-se rico em bacilos a. a. r. No 3.º dia da sua captura no doente leproso, triturei esse ixódida e o seu sedimento mostrou-se ainda mais rico em bacilos e globias que as fezes.

Eis aqui, portanto, outro modo pelo qual o carrapato poderá veicular o bacilo de Hansen : — depondo as suas fezes no rosto de qualquer pessoa, o que deve ocorrer frequentemente entre os habitantes da zona rural, durante o sono, fezes essas que poderão ser arrastadas mecanicamente á mucosa ocular. Está provado que a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* se dá frequentemente pelas fezes dos barbeiros, depositadas na face das pessoas, durante o sono. Não é heresia, portanto, admitir-se fato idêntico para o carrapato, cujas fezes poderão também infectar quaisquer soluções de continuidade da pele humana.

No Instituto Butantan, recentemente, Travassos e Vallejo infectaram dois exemplares de *Amblyomma cajennense* com *virus* da febre maculosa, fazendo-os sugar no pavilhão da orelha duma capivara (*Hydrochoerus capybara*), enferma desse mal. Seis dias após o seu repasto, tempo considerado bastante para a digestão do sangue ingerido e multiplicação *in vivo* das rickettsias, esses pesquisadores colocaram os dois ixódidas sobre uma cobaia que, sugada, durante quatro dias, ficou infectada. Os autores chegaram à seguinte conclusão:

“*Amblyomma cajennense* pode, alimentando-se em *Hydrochoerus capybara* infectar-se e, posteriormente, transmitir a infecção por picada a outros animais ou possivelmente ao homem”.

Com esta experiência se confirma que o *A. cajennense* pode interromper o seu repasto e continuá-lo, dias após, noutro hospedador e fica-se sabendo que ele ao sugar o 2.º hospedador pode injectar-lhe um *virus* qualquer. Haja vista o que ocorre também com o *Boophilus microplus* quando transmite as piroplasmose, babesiose e anaplasmosse bovinas e até a rickettsiose brasileira. Vale à pena, ainda, lembrar que a geografia da lepra na Argentina coincide com a do *Boophilus microplus*.

Para liquidar-se esta questão do carrapato se transferir dum hospedador para outro, durante um dos seus três repastos de sangue, apenas hipótese na minha 1.^a nota, quero referir o que verificámos nas nossas experiências realizadas em maio e junho últimos, no Paraná, e tão bem descritas no trabalho do Dr. Ruy Noronha Miranda, que o *Boophilus microplus* é muito inconstante na sua sucção, mudando frequentemente de local tanto no 1.^o como no 2.^o hospedador, durante o mesmo repasto. Quanto ao *Amblyomma cajennense*, predendo-se muito mais depressa que o *Boophilus* na pele humana, e mais constante na sua sucção, porem, transferido, mesmo no fim do 2.^o dia, não demora para prender-se no outro hospedador. Nas nossas experiências no Paraná verificámos que o referido *Amblyomma* sugou durante 2 dias num doente e transferido para outro, fixou-se nele imediatamente e permaneceu 17 dias sugando (No 1.^o de 2 a 4/6 e no 2.^o de 4 a 21/6).

Agora, o que concerne com a multiplicação do bacilo da lepra *in vivo*, nos carrapatos : Não posso conceber que estes parasitos tenham aspirado do sangue periférico dos leprosos as grandes massas bacilares vistas na estampa 1, da minha 2.^a nota, nem também as inúmeras globias e massas das ilustrações desta 3.^a nota. A meu ver esses conglomerados bacilares representam colônias do bacilo de Hansen produzidas no tubo digestivo dos ixódidas. Tanto mais longos os períodos da sucção e do intervalo entre a captura e o exame microscópico do carrapato, tanto maior nele o número de globias e massas microbianas. Esta minha verificação encontra apoio nos estudos feitos nos Estados Unidos por Denney e Eddy, cultivando os bacilos de Hansen e Stefansky em suspensão de leucócitos frescos de coelho, em solução de Tyrode. Esses pesquisadores verificaram que os bacilos isolados são fagocitados pelos leucócitos dentro de 1/2 hora, processando-se no seu interior a multiplicação dos germes até à formação das globias, que entopem os leucócitos entre 24 e 48 horas. As globias são, para eles, a fase terminal, estática, do ciclo vital desses bacilos. Com a adição de novos leucócitos dá-se a ruptura das globias e a repetição do fenômeno.

A hipótese constante da 2.^a conclusão da minha primeira nota, no concernente à vitalidade e virulência dos bacilos encontrados nos carrapatos, já teve confirmação quase satisfatória, pois, já obtive cinco vezes culturas desse bacilo assim como conseguí infectar ratos brancos com os sedimentos de carrapatos infectados em leprosos, com uma incubação de 7 meses e mais, enquanto que por passagem a incubação se reduziu a cerca de metade desse tempo, em ambos os casos com produção dos granulomas típicos.

O material destas experiências será objeto de um futuro trabalho.

É de alta conveniência agora a inspecção de alguns focos virgens de lepra, na zona rural, afim de se capturarem carrapatos em doentes e seus comunicantes, no seu *habitat*, para os estudos complementares.

O Dr. Orestes Diniz, diretor do Serviço de Profilaxia da Lepra de Minas Gerais, já me designou alguns focos inexplorados e se prontificou a cooperar nessas pesquisas. Por sugestão minha o Dr. Nelson Souza Campos, diretor do Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo, também resolveu colaborar nestes estudos, que, pela sua gravidade e importância estão a merecer pronta e definitiva solução.

May leprosy be transmitted by ticks ?

Abstract

The AA. carried out experiments in the leprosarium São Roque, State of Paraná, South Brazil, to verify if the cattle tick *Boophilus microplus* could be experimentally infected in lepers, which was true.

The AA. tried also to be ascertained if *Boophilus microplus* and *Amblyomma cajennense* could change of hosts during their feedings which was true, both ticks continue feeding, the last species for many days, after being transferred from one to another leper.

The junior A. describes in full their experiments and also a dermatitis caused by tick bites.

The senior A. brought to Rio de Janeiro most of the infected ticks for examination, which revealed a very high positivity. He smeared the sediments of lots of both species of ticks in Loewenstein medium and after a variable period of incubation at 37° C. he obtained four new samples of cultures of acid-fast organisms, two from *Amblyomma cajennense* and two from *Boophilus microplus*. These cultures are being studied and will be inoculated into laboratory animals.

The senior A. inoculated new batches of white rats with sediments of many ticks infected in lepers. Various hypotheses of both previous notes upon the subject now are verified facts. The A. is accumulating facts to draw the conclusions in the future. He also suggested the leprosy workers in the interior of the country to cooperate with him in such important studies, specially in the *habitat* of lepers in the rural zones of various States.

BIBLIOGRAFIA

DENNEY, O. E. and EDDY, BERNICE E.

- 1933 Leprosy. Comments on in vitro behavior of lepra and certain other acid-fast micro-organisms in presence of leukocytes.
Archives Dermatology and Syphilology, 27 : 794-804.

SOUZA-ARAÚJO, H. C. de

- 1941 Poderá o carrapato transmitir a lepra?
Memórias Inst. Osw. Cruz, T. 36, pp. 577-584. Ilustrado.

SOUZA-ARAÚJO, H. C. de

- 1942 Poderá o carrapato transmitir a lepra?
Isolamento e cultura dum bacilo ácido-álcool resistente do sedimento de *Amblyomma cajennense* capturado em leproso. 2.^a Nota.
Memórias Inst. Osw. Cruz, T. 37, pp. 95-104. Com 3 estampas.

TRAVASSOS, J. & VALLEJO, A.

- 1941 Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infectar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com virus da febre maculosa.
Memórias do Instituto Butantan, T. XV, pp. 87-90.
-