

TYPHO EXANTHEMATICO DE S. PAULO

XI. Novas experiencias sobre a transmissão experimental por carrapatos

(*Boophilus microplus* e *Amblyomma cajennense*)

POR

J. LEMOS MONTEIRO E FLAVIO DA FONSECA

Em trabalho anterior (1) foi relatada uma serie de pesquisas sobre a possibilidade de transmissão experimental do typho exanthematico de São Paulo por *Ixodidae*. No presente artigo nos occuparemos de uma nova serie de experiencias com duas especies de carrapatos, o *Boophilus microplus* e o *Amblyomma cajennense* existentes na zona onde a infecção se tem mostrado sob forma endemica.

Exemplares adultos destes carrapatos, colhidos em animaes (bois e cavallos do Instituto) e que não se mostraram naturalmente infectados, como ficou demonstrado pela inoculação de varios delles em cobaias, foram postos a sugar cobaias infectadas com o typho exanthematico de São Paulo, durante o periodo de pyrexia. Os carrapatos permaneciam sobre o animal durante um ou mais dias, sendo recolhidos quando se desprendiam e conservados em tubos apropriados. Decorrido certo numero de dias, uns eram postos a sugar cobaias normaes, outros eram lavados, triturados, emulsionados em solução physiologica e inoculados, ainda outros eram incluídos para cortes e outros, finalmente, eram conservados com o fim de obter posturas, destinada a se verificar a infectuosidade dos ovos e larvas delles oriundos.

Experiencias com o *Boophilus microplus* (CAN., 1888)

Cobaia 659, Cobaia 660, Cobaia 662, inoculadas em 23.III.932 respectivamente com emulsão de 2 ♀, 1 ♀ e 2 ♀ que haviam sugado em 12.III.932 a cobaia 641, infectada. Resultado negativo, por não terem as cobaias apresentado reacção febril e não se terem mostrado imunizadas ao ser nellas praticada a

inoculação de virus, com excepção da 660, que morreu accidentalmente, sem esta segunda prova.

Cobaia 734 e Cobaia 737, inoculadas em 20.IV.932, respectivamente com 9 exemplares (mortos havia alguns dias), alimentados de 8 a 11.IV.932 na cobaia 697 (desde o 1.º dia de reacção febril) e 2 ♀ que haviam sugado cerca de 92 horas (12 a 16.IV.932) a cobaia 700 (do 2.º dia de reacção febril em diante). Resultado negativo; ausencia de reacção febril e de immuniidade á inoculação de virus activo.

Cobaia 744 e Cobaia 746A, — Submettidas em 19.IV.932 á picada de, respectivamente, 1 ♀ que 11 dias antes havia sugado durante 17 horas a cobaia 673 infectada (3.º e 4.º dias de reacção febril) e 6 exemplares que 7 dias antes haviam picado a cobaia 700, infectada, durante 92 horas. A 21.IV o carrapato tinha abandonado a primeira cobaia e na segunda somente um exemplar continuava fixo.

Resultado negativo; ausencia de reacção febril e de immuniidade ao virus.

Das experiencias com o *Boophilus*, a unica da serie de resultado positivo, foi a seguinte:

Cobaia 733 — Inoculada em 20.IV.932 com 2 ♀ que 13 dias antes (7 a 8.IV.932) haviam picado durante cerca de 17 horas a cobaia 673, infectada, no 3.º dia de reacção febril (40º). A cobaia 733 não apresentou curva typica da temperatura, porém reacção thermica acima da normal, attingindo 40º no 5.º e 9.º dias, a contar do inicio da picada. No 6.º dia, com a temperatura de 39º,6, foi sangrada e com seu sangue inoculada a cobaia 749.

Cobaia 749 — Inoculada em 26.IV.932 com 2 cc. de sangue da cobaia 733. Após incubação de 6 dias a temperatura attinge 40º, ahi se mantendo nos dias seguintes, elevando-se a 40º,2 no 11.º e morrendo na manhã de 9.V.932. A pesquisa de *Rickettsia* nas cellulas mesotheliaes da parede peritoneal foi positiva (++++), sendo a infecção tambem confirmada pela inoculação do sangue feita no 9.º dia na cobaia 765 e de emulsão de cerebro na cobaia 773. Estas ultimas tiveram infecção caracteristica, tendo sido feitas novas passagens do virus, num total de 5, nas cobaias 780, 783 e 789.

Uma unica experiencia (cobaia 661) feita com inoculação de ovos postos por um *Boophilus*, 11 dias após ter sugado uma cobaia infectada, foi negativa.

Experiencias com o *Amblyomma cajennense* (FABR., 1787)

Com esta especie de carrapato os resultados foram mais interessantes e demonstrativos do papel que possivelmente representa como transmissor natural do typho exanthematico de S. Paulo.

Das 5 experiencias realizadas, apenas uma deu resultado negativo; nas outras, o virus poude ser isolado em 3, dando a ultima prova de immuidade positiva.

Resumiremos estas experiencias de inoculação (2), de picada (2) e de inoculação de ovos (1):

Cobaia 735 — Inoculação em 20.IV.932 com 1 exemplar ♀ que havia sugado 11 dias antes, durante cerca de 44 horas, a cobaia infectada 687, desde o 1.º dia de reacção febril. No 5.º dia, a temperatura sobe a 40º, sendo de 39º,5 no dia seguinte. Alguns dias depois volta á media normal, sendo reinoculada com virus activo (emulsão de cerebro da cobaia 768) decorridos 21 dias da inoculação; não reagiu com febre, mostrando-se immunizada (a cobaia 779A testemunha do virus, apresentou infecção typica).

Cobaia 736 — Inoculada em 20.IV.932 com 1 ♀ que 9 dias antes havia sugado durante cerca de 26 horas, no 4.º dia de reacção febril (40º,4), a cobaia infectada 687. Esta cobaia apresenta nos 4.º e 5.º dias reacção febril ligeira (39º,6 e 39º,5), morrendo na manhã de 7.IV.932. Emulsão de seu cerebro foi inoculada na cobaia 753. Esta apresenta reacção febril caracteristica durante 4 dias, após 3 dias de incubação, morrendo na noite do 7.º para o 8.º dia. Durante a reacção, o sangue foi inoculado na cobaia 759, que teve infecção caracteristica com reacção escrotal, sendo o virus (emulsão de cerebro), transferido para a cobaia 776 e desta, em 5.ª passagem, para a cobaia 793. Em todas as passagens a infecção se manifestou de modo caracteristico, sendo evidenciada a presença de rickettsias em esfregaços da parede peritoneal de varias das cobaias.

As experiencias por picada foram as seguintes:

Cobaia 745 — Submettida, de 19 a 22.IV.932, á picada de um exemplar ♀ que de 9 a 11.IV.932 (cerca de 44 horas) havia sugado a cobaia infectada 687, no 1.º dia de reacção febril. A cobaia não apresentou reacção febril e não se mostrou immunizada á inoculação virulenta feita em 11.V.932. Da serie, este foi o unico resultado negativo.

Cobaia 746 — Submettida desde 19 a 21.IV.932 (quando se desprende o carrapato) á picada de 1 exemplar de *Amblyomma* que havia sugado de 11 a 13.IV.932 (cerca de 26 horas) a cobaia infectada 687. Em 26.IV.932 a temperatura da cobaia attinge 40º, quando foi sangrada e inoculada a cobaia 748, continuando elevada a temperatura dos dias seguintes (40º,0; 40º,2; 40º,0; 39º,5; 39º,8 e 38º,5), morrendo o animal durante a noite de 2 para 3.V.932. A cobaia 748, inoculada com sangue colhido no 1.º dia de febre, apresenta reacção febril caracteristica (4 dias de febre, acima de 40º,0 após 3 dias de incubação), tendo sido sacrificada nessa occasião para passagem do virus e sendo feitas 4 passagens consecutivas com sangue ou emulsão de cerebro (cobaias 760, 781 e 795).

Para verificação da infectuosidade dos ovos de *Amblyomma cajennense* infectado, demonstrativa da transmissão "hereditaria" do virus, foi feita uma experiencia, com 2 cobaias.

Cobaia 787 — Inoculada em 17.V.932 com emulsão de cerca de 200 ovos de 14 dias, postos por uma femea que havia sido alimentada 24 dias antes da postura na cobaia infectada 687. Em esfregaços de ovos, corados pelo Giemsa, foram vistos raros microorganismos semelhantes a *Rickettsia* (symbiontes?). A cobaia inoculada não apresentou reacção febril caracteristica, amanhecendo, porém, morta no 11.º dia, sendo inoculada emulsão do seu cerebro na cobaia 804. Esta apresenta reacção febril, tendo sido a seguinte a evolução da temperatura: 38º,6 (dia da inoculação); 38º,2; 38º,2; 38º,5; 40º; 39,2; 40º,5; 39º,5; 40º; 38º,2, morrendo ás 12 horas de 7.VI.932.

Em esfregaços da parede peritoneal foi verificada a presença de rickettsias (+ + +) nas cellulas mesotheliaes. Nova passagem do virus foi feita para a cobaia 810.

A outra cobaia inoculada com cerca de 50 ovos de outro *Amblyomma*, cobaia 788, não apresentou reacção febril, porém o resultado não é concludente, visto não ter sido feita passagem com sangue, nem prova de immuidade, pelo facto de a cobaia ter morrido accidentalmente e não ter sido possivel aproveitar o material.

DISCUSSÃO

Pelas experiencias assignaladas verifica-se que entre as especies de carrapatos, encontradas na zona onde se têm manifestado de preferencia os casos de typho exanthematico de S. Paulo, uma existe, o *Boophilus microplus*, que pode ser um vehiculador do virus, permanecendo este em seu organismo durante certo numero de dias, podendo-se provocar infecção na cobaia inoculando-a com uma emulsão do carrapato. Com o *Amblyomma cajennense*, outra especie commum na zona infectada, a infecção, não só poude ser transmittida experimentalmente por esse mesmo mecanismo, como tambem, o que é muito mais interessante, pela picada de um exemplar que havia anteriormente sugado uma cobaia infectada.

No *Amblyomma* o virus soffre seguramente evolução, tambem infectando os ovos e sendo transmittido "hereditariamente" pelo carrapato. Esta transmissão aos ovos ficou demonstrada em experiencia feita em condições excellentes para tal conclusão e tambem pelo facto de se ter verificado a presença de microorganismo semelhante a rickettsia em esfregaços de ovos da mesma postura que se mostrou infectante pela inoculação, resalvada, todavia, a hypothese de se tratar de microorganismo de outra natureza (*Ixodisymbionte*), indistinguivel morphologicamente da *Rickettsia*.

Outro facto que demonstra o papel do *Amblyomma cajennense* na transmissão da infecção experimental, e que será opportunamente objecto de estudo

mais pormenorizado, é que em cortes de exemplares infectados, corados pelo methodo de Giemsa, pudemos pôr em evidencia a presença da *Rickettsia*, descripta por um de nós como seu agente causador (2 e 3), em abundancia e com a morphologia habitual dos microorganismos deste genero quando nos transmissores intermediarios.

Dos resultados de nossos estudos experimentaes e pelo que se conhece de outras modalidades do "typhus" transmittidas por differentes carrapatos (febre maculosa das Montanhas Rochosas, febre botonosa) é licito acreditar que o *Amblyomma cajennense*, no caso do typho de S. Paulo, além de poder representar o papel de transmissor da infecção, poderia ser tambem um verdadeiro depositario do virus na natureza, em virtude de ser este transmittido "hereditariamente" pelo carrapato, explicando facilmente o character endemico da infecção desde que ficasse provado conservarem-se os carrapatos infectantes durante todas as phases do seu cyclo evolutivo.

Em conclusão, os nossos resultados experimentaes demonstram que, embora outras especies possam ser vehiculadores do virus, o que talvez ocorra com hematophagos diversos, o carrapato *Amblyomma cajennense* deve ser incriminado como um dos mais provaveis transmissores do typho exanthematico de S. Paulo, visto transmittir a infecção experimental por picada e por ser o virus transmittido "hereditariamente" á sua prole.

RESUMO

Em nova serie de experiencias foi investigada a transmissão experimental do virus exanthematico de S. Paulo, por especies de carrapatos, o *Boophilus microplus* e o *Amblyomma cajennense*, existentes na zona onde a infecção se tem manifestado de preferencia. Por ellas se pode concluir que, embora outras especies possam vehicular o virus, o carrapato *Amblyomma cajennense* deve ser incriminado como um dos mais provaveis transmissores do typho exanthematico de S. Paulo, pelo facto de poder parasitar o homem, de transmittir a infecção experimental pela picada e tambem por transmittir o virus "hereditariamente" á prole. Além disto, em cortes de *Amblyomma* infectado verificou-se a presença, em grande abundancia em certas localizações, de microorganismos cuja morphologia não se distingue da das rickettsias quando nos vectores intermediarios. Estes microorganismos, no caso em apreço, representam a *Rickettsia brasiliensis* nesse transmissor.

ABSTRACT

In this new series of experiments there has been investigated the experimental transmission of the virus of the São Paulo typhus by certain species of ticks, such as *Boophilus microplus* and *Amblyomma cajennense*, which are abundant

in the region where the infection is endemic. From the results obtained it seems clear that, although other forms may serve as a "reservoir" to the virus, the tick *Amblyomma cajennense* must be considered as the most probable carrier of the São Paulo typhus, because it is able to parasite man, transmit the experimental infection by sting and also transmit its virus "hereditarily". Moreover, in sections of infected *Amblyommata* there has been verified the presence, sometimes abundant in certain sites, of a microorganism bearing the same morphology as that of rickettsiae in the intermediate hosts. These microorganisms, in the present case, represent the *Rickettsia brasiliensis* in that carrier.

BIBLIOGRAPHIA

1. *Monteiro, J. Lemos; Fonseca, F. da & Prado, A.* — Brasil-Medico XLVI (3):49.1932.
2. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLV (35):805.1931; C. R. Soc. Biol. CVIII (30):521.1931.
3. *Monteiro, J. Lemos* — Brasil-Medico XLVI (17):385.1932.

(Trabalho das Secções de Virus e de Parasitologia do Instituto Butantan, apresentado á Soc. Biologia S. Paulo, 8-VII-1932).