

## PESQUISAS SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS SIL- VESTRES INOCULADOS COM VIRUS AMARILICO (\*)

POR

FLAVIO DA FONSECA & PAULO ARTIGAS

Desde que ficou estabelecida a noção da sensibilidade de *Macaca mulatta mulatta* (= *Macacus rhesus* = *Silenus rhesus*) (1) ao virus amarellico, esforçaram-se os pesquisadores por encontrar outras especies de primatas que demonstrassem igual receptividade, iniciando-se uma serie de investigações sobre a infecção experimental de macacos que ainda hoje prossegue.

Em 1930 o nosso malgrado companheiro de trabalho Lemos Monteiro (2) teve, pela primeira vez, a idéa, talvez então julgada por demais avançada, de pesquisar a sensibilidade de cães e gatos ao virus amarellico, tendo demonstrado a persistencia de virus circulante no organismo desses mamiferos domesticos.

Com o advento das novas noções sobre a epidemiologia da febre amarela, comprovada a possibilidade de se manifestar a infecção com modalidade extra-urbana, tornou-se do mais alto interesse a pesquisa da sensibilidade de animais silvestres ao virus amarellico, pois a descoberta de um ou mais que pudessem funcionar como reservatorios naturais viria não somente simplificar a compreensão do modo pelo qual se entretém o virus na natureza, como tambem, talvez, auxiliar eficazmente as medidas profilaticas a serem aconselhadas.

Pesquisa de realização aparentemente facil, oferece na pratica um sem numero de dificuldades, desde que se a deseje realizar em maior escala. A obtenção de animais silvestres vivos e de boa saúde, de proveniencia perfeitamente conhecida, em numero suficiente e em prazo curto depende de um serviço de capturas

(\*) Os trabalhos em questão foram realizados no Instituto Butantan em virtude de acordo entre esta instituição e o extinto Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela, a cujo diretor, dr. Henrique Aragão, deixamos consignados agradecimentos pelo auxilio concedido para a realização das presentes pesquisas. Somos tambem gratos a T. C. S. Morrison-Scott, do Museu Britanico, que levou a efeito a determinação de varios exemplares de *Muridae*, *Felidae* e *Canidae*.

bem organizado, funcionando com regularidade perfeita e, a menos que se disponha de numerario à discreção, deverá ser organizado pelo proprio laboratorio interessado, que regulará os fornecimentos e determinará a proveniencia do material.

A raridade de informes registados na literatura sobre o momentoso problema repousa certamente nesta dificuldade que oferecem as capturas. Abstraidas as pesquisas sobre a sensibilidade de simios, iniciadas logo após as verificações de Stockes, Bauer e Hudson, por Aragão, em 1928 (3), só se encontram referencias esparsas sobre a sensibilidade desta ou daquela especie animal, não havendo na literatura um só trabalho de maior vulto, em que seja feito um inquerito, ainda que parcial, sobre o comportamento da fauna de uma dada região.

Mesmo assim são valiosas as pesquisas isoladas até agora realizadas, as quais permitiram já a descoberta de animal ainda mais sensível do que o *rhesus*, o ouriço europeu, *Erinaceus europeus*, segundo as pesquisas de Findlay e colaboradores (4).

Encarregados de efetuar pesquisas sobre a sensibilidade de animais silvestres pela diretoria do extinto Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela, que controlava as pesquisas sobre a febre amarela no Estado de São Paulo, tratamos de conjugar os esforços do serviço de capturas de animais silvestres que mantem a nossa Secção de Parasitologia no Instituto Butantan, com o serviço de fornecimento de animais entretido pelo mesmo Instituto no interior do país e com o auxilio do que nos pode prestar o S.E.D.C.F.A.. Dessa associação resultou um fornecimento de mamiferos que, sem ser o ideal, possibilitou, entretanto, a obtenção de resultados interessantes para a fauna da região neotropical.

Revista a bibliografia pertinente ao assunto e postas de lado as verificações sobre a sensibilidade de primatas, referidas em outro trabalho, encontram-se na literatura dados sobre o comportamento das seguintes especies animais, apresentados pela ordem cronologica das observações.

*Canis familiaris*. — Segundo as verificações de Lemos Monteiro (2), a inoculação subcutanea de sangue e figado de *rhesus* infetado com virus Asibi em cão permite o encontro de virus circulante atenuado até 12 dias após a inoculação, não sendo, porém, o cão sensível à infecção. Nicolau e Baffet (5), inoculando por via cerebral virus neurotropico não obtiveram infecção, verificando, porém, que, apesar do cerebro não ser infetante 8 a 19 dias após a inoculação, se observam, todavia, lesões de encefalite e inclusões nucleares.

*Felis catus*. — Na mesma serie de experiencias realizadas em 1930 no Instituto Butantan, relatou Lemos Monteiro (2) poderem gatos adultos inoculados pelas vias peritoneal ou subcutanea com sangue de *rhesus* infetado com virus Asibi apresentar reação febril, abatimento e paresia fugaz. *Rhesus* inoculados com sangue destes animais, datando até de 30 dias, não apresentaram infecção.

mostrando-se, porém, imunizados ao lhes ser feita inoculação de material seguramente ativo. Virus Asibi inoculado por via cerebral (0 cc. 5 de sangue de *rhesus*) não provocou infecção, tendo, porém, sido obtida paralisia passageira após inoculação de virus amarello neurotropico (? 3.<sup>a</sup> passagem por camondongo) por via peritoneal.

Nicolau e Baffet (5), inoculando virus neurotropico por via cerebral em gatos jovens, não só não obtiveram sintomas de infecção, como também não observaram lesões histo-patologicas semelhantes às encontradas nos cães, concluindo parecerem os gatos ser completamente refratarios, resultado este ao qual se opõe o dos autores da presente nota, referido em outra publicação (34).

*Cavia porcellus*. — Não levado em consideração o trabalho de Kuczinski e Hohenadel (7), em que é alegado haver sido obtida infecção amarellica (!) da cobaia ora com material de *rhesus*, ora após inoculação de uma mistura de tres culturas do difterioide *B. hepatodysdrophicans*, considerado então por Kuczinski o agente da febre amarela, a primeira verificação da persistencia do virus amarello no organismo da cobaia cabe a Sellards (8), que conseguiu reisolar virus de cobaia inoculada com material de *rhesus* infectado. Dinger, Schüffner e Snijders (9) obtiveram resultados semelhantes, bem como Sawyer e Frobisher (10). A primeira verificação de produção de encefalite, porém, cabe a Theiler (11), que conseguiu a transmissão em serie, partindo do virus neurotropico da amostra francêsa com 158 passagens em camondongo, fato este logo a seguir confirmado por Stephanopoulo e Wassermann (12).

Lloyd, Penna e Mahaffy (13) obtiveram encefalite em cabaias, estudando a distribuição do virus, que alcança o sistema nervoso periferico, e a patologia das lesões. Stephanopoulo (14) assinala a sensibilidade da cobaia à introdução do virus por via intraraqueana e mesmo, excepcionalmente, à via intraperitoneal, com produção de encefalite em ambos os casos. Nicolau, Mathis e Baffet (15) referem o alargamento do periodo da incubação e a diminuição da virulencia após 35 passagens em serie em cobaia. Sob o ponto de vista anatomo-patologico foram tais lesões estudadas em cabaias e outros animais por Findlay e Stern (16). Findlay (17) verificou a presença do virus no sistema nervoso central e nas capsulas suprarenais de cabaias inoculadas com virus neurotropico por via cerebral. Nicolau, Kopciowska, Mathis e Baffet (18) fizeram estudo anatomo-patologico antes de Findlay e Stern. Cowdry e Kitchen (19) não encontraram inclusões nucleares em cabaias inoculadas por via cerebral.

*Molossus obscurus* e *Desmodus rufus*. — Kumm (6) baseado no fato de se alimentarem facilmente os *Aedes aegypti* em morcegos, experimentou a sensibilidade destas duas especies ao virus Asibi por picada de *Aedes aegypti* infectados, verificando não serem elles sensiveis. Obteve, entretanto, transmissão mecanica do virus de *rhesus* infectados para sãos durante a picada de *Desmodus*

*rotundus*, desde que o intervalo entre as duas picadas não ultrapassasse 2 minutos.

*Dasyprocta aguti*. — Lloyd e Penna (20) e Lloyd, Penna e Mahaffy (12) demonstraram ser a cotia sensível à inoculação intracerebral do vírus neurotópico.

*Microtus agrestis*. — A infecção deste roedor foi obtida com vírus neurotópico por Findlay (21) que obteve 80% de encefalite.

*Mus musculus musculus*, *Mus musculus gentilis* e *Mus musculus azoricus*. — A primeira destas espécies, o camundongo cosmopolita doméstico foi verificada sensível à inoculação do vírus neurotópico por via cerebral, mas não pela intraperitoneal por Laigret (22), assinalando também Stephanopoulo a sua sensibilidade (13). As duas outras sub-espécies, ambas africanas, foram experimentadas por Laigret (22), que observou ser a primeira sensível à inoculação cerebral e a última também à inoculação intraperitoneal de vírus presumivelmente neurotópico, pois em seu trabalho não é declarado taxativamente qual o vírus utilizado, salvo para *M. m. musculus*.

*Sus scrofa*. — Stephanopoulo, Mollaret e Desnos (23) observaram febre, paralisia e morte no 7.º dia consecutiva à encefalo-mielite em um leitão inoculado por via cerebral com vírus neurotópico, não tendo, porém, o cérebro e o líquido cefalo-raqueano se mostrado infetantes para camundongos e macacos. Obtiveram provas da proteção positiva no 28º dia com o soro e o líquido cefalo-raqueano de um segundo leitão inoculado por três vezes com vírus pantropico e uma vez com vírus neurotópico.

*Sciurus vulgaris*. — Findlay (21) obteve encefalite neste esquilo após inoculação do vírus neurotópico.

*Erinaceus europeus*. — Findlay em 1934 (24) verificou a alta sensibilidade deste *Insectivora* europeu ao vírus neurotópico, cuja inoculação intracerebral provoca necrose do fígado. Posteriormente (25) Findlay e Clarke observaram a grande sensibilidade do mesmo animal ao vírus pantropico, tendo morrido 100% de 28 inoculados do 4.º ao 70.º dia. Subsequentemente verificaram os mesmos pesquisadores (26) que a sensibilidade do *Erinaceus europeus* é tal que a própria inoculação do vírus neurotópico praticada por via intraperitoneal ou subcutânea tem sempre decurso fatal, aparecendo os sintomas do 6º ao 11º dia. Ao contrário dos restantes animais sensíveis, o vírus persiste após a morte no cérebro, fígado, rins, baço e suprarenais, embora só raramente exista no sangue.

Estas verificações apresentam um interesse considerável, pois sendo a sensibilidade de *Erinaceus europeus* maior do que a do próprio *rhesus*, possibilita o emprego desse animal como reativo para verificação do grau de atividade do vírus utilizado na vacinação humana (27), como bem o assinala Thiroux (28), conferindo maior segurança ao seu emprego.

*Atelerix albiventris* (= *Erinaceus pruneri*). — A sensibilidade do ouriço sudanês foi verificada por Findlay, Hewer e Clarke (29), que observaram infecção após inoculação com virus Asibi.

*Cytilus cytilus*. — Stephanopoulo, Nagano e Wassermann (30) comunicaram ter verificado que o cerebro do espermofilo inoculado com virus neurotrofico por via cerebral era infetante no 5º dia, sendo, todavia, negativa a inoculação intraperitoneal e a intracerebral com virus Asibi e com virus adaptado à cobaia. Só foi conseguida a primeira passagem em serie.

*Rana catesbiana*. — E' a unica citação da obtenção de virus de animal de sangue frio inoculado; foi conseguido do sangue por Sawyer e Frobisher (31) após 4 dias de inoculação do virus Asibi no coeloma.

*Rato* (*sp. ?*). — Citado por Findlay (21) como sensível à inoculação intracerebral, sobrevivendo o virus seis dias.

*Evotomys glareolus*, *Apodemus sylvaticus* e o coelho não se mostram sensíveis segundo Findlay (21). Furão (*Putorius foetidus*), "hamster" dourado (*Cricetus auratus*), pombo, galinha e canario foram inoculados sem sucesso por via cerebral por Findlay (21), bem como *Rana temporaria*, inoculada por via cerebral e no sacco linfatico por Stephanopoulo, Nagano e Wassermann (30), o mesmo sucedendo no coelho domestico, segundo Whitman (32), o qual, aliás, dá prova da proteção positiva, sendo mesmo possível a hiperimunização.

### Pesquisas originais

Conhecidas as aquisições modernas sobre a sensibilidade de animais silvestres ou domesticos ao virus amarílico, passaremos a descrever as experiencias instituidas em nosso laboratorio no decurso dos anos de 1937 e 1938, deixando de parte, por constituirem objeto de outro trabalho, as que dizem respeito aos primatas.

### Material

Os animais utilizados em nossas verificações provinham em grande parte das matas do Horto Florestal do Estado de S. Paulo, na Serra da Cantareira, cujo diretor, dr. José Cabral, nos concedeu, a titulo excepcional e à vista dos fins colimados, permissão para efetuar a captura de quaisquer especimes de fauna representada nessa importante reserva de caça. Para a captura desses exemplares contámos com a decisiva colaboração do dedicado auxiliar tecnico do Instituto Butantan, sr. José Navas, o qual de modo absolutamente desinteressado se prestou a executar, sob a nossa orientação, êsses penosos e muitas vezes arriscados trabalhos. Os restantes exemplares por nós utilizados, foram, em sua

maior parte, obtidos graças ao serviço de permuta entretido pela Secção de Parasitologia com os fornecedores de ofídios do Instituto Butantan. Em menor percentagem foram os animais em questão adquiridos de particulares graças ao auxilio do Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela.

Os virus utilizados nas experiencias foram fornecidas pelo S.E.D.C.F.A., que os obteve da Fundação Rockefeller: virus pantropico Asibi (No. 40.087 + 4.061) e virus neurotropico (F. 654). O primeiro foi por nós conservado seco em alto vacuo após congelação pela neve carbonica, segundo a tecnica de Sawyer, Lloyd e Kitchen (33), tendo o segundo sido entretido quer por passagens sucessivas por camondongos brancos de estirpe Swiss, importados pelo S.E.D.C.F.A. da America do Norte e criados no Instituto Butantan, quer por secagem em alto vacuo após congelação.

De todos os animais utilizados foi, antes de injetá-los com virus, retirado sangue para inoculação em camondongos, visando a pesquisa do virus natural, verificação esta de resultados negativos em todos os animais examinados.

### Suidae

*Tajassus tajassu*. — Cateto ou pecari — Foram utilizados apenas animais jovens, com alguns meses de idade, todos capturados em estado selvagem no Horto Florestal, na Serra da Cantareira, cidade de São Paulo.

*Cateto 1630*. — Inoculado por via cerebral com 0 cc. 5 de emulsão a 1 : 20 de cerebro de camondongos moribundos, a 11.2.38. Sangrado a 14.2.38 não foi encontrado virus circulante. A temperatura foi de 39°1, 38°9, 40° e 38°7 do 1° ao 5° dia da inoculação. A 15.2 apresentava-se paretico e com contraturas. A 16.2 a paralisia era completa nos membros não se sustendo o animal de pé (Foto 1), sendo então sacrificado. Do figado inoculado em seis camondongos não foi possivel reisolar virus, nem tampouco do sangue. O cerebro, porém, inoculado em seis camondongos deu como resultado a morte de um e a paralisia de tres no 6° dia, morrendo tres no 7° dia, quando foram sacrificados os dois restantes para passagens, tendo sido feitas sete passagens sucessivas em camondongos com o virus reisolado.

*Cateto 1634*. — Inoculado a 16.2.38 com 1 cc. de emulsão do cerebro do cateto 1630 por via intracerebral, apresentou-se paretico a 25.2., firmando-se a paralisia a 26.2. (Foto 2), amanhecendo morto a 27.2.. A temperatura, que oscilára entre 38°7 e 39°1 nos sete primeiros dias subiu a 40°5 no oitavo dia e a 40°4 no nono dia. A pesquisa do virus circulante realizada a 23.2 foi negativa. Do cerebro foi reisolado virus em um lote de seis camondongos que morreram do 6° ao 7° dia, tendo sido feitas ao todo com este virus sete passagens de camondongo a camondongo.

*Cateto 1633*. — Irmão de um dos precedentes. Inoculado a 21.1.38 com 1 cc. de soluto 1 : 20 de virus Asibi por via subcutanea não apresentou sintoma

algum de molestia, não tendo sido conseguido o reisolamento do virus circulante no 5º, 10º nem no 17º dias. A temperatura, que foi de 39º8 no segundo dia da inoculação, baixou a 38º9 no terceiro dia, subindo a 39º8 no setimo dia, não indo além de 39º2 nos dias seguintes.

### Caviidae

*Cavia aperea* ERXL. (*rufescens?*). — Com este pequeno *Caviidae* extremamente comum em todo o Brasil, foi feita uma experiencia levada a bom termo com animal proveniente de Pindamonhangaba, Estado de São Paulo:

*Preá 1620.* — Inoculada a 5.1.38 por via cerebral com 0 cc. 5 de emulsão a 1:20 de cerebro de camondongos paraliticos. A 8.1 foi sangrado, não tendo sido conseguido isolamento de virus circulante. Apresentou-se paralitica a 10.1.38, morrendo no dia seguinte. O cerebro deste animal inoculado em camondongos suissos matou todos do 4º ao 6º dia, tendo sido efetuadas mais doze passagens de camondongo a camondongo com este virus, cujo comportamento foi normal.

Da experiencia com a preá No. 1621, de Ribeirão Pires, Estado de São Paulo, inoculada por via cerebral, com virus neurotropico, não foi possivel chegar à conclusão por ter morrido acidentalmente poucos dias depois da inoculação. A preá ♂ 1598, inoculada a 1.11.37 com 2 ccs. de virus Asibi por via peritoneal não apresentou sintomas, morrendo a 6.12.37; o cerebro inoculado em camondongos não foi isolado virus. De ambas foi tentado o isolamento do virus circulante, no terceiro dia após a inoculação, com resultados negativos.

*Hydrochoerus capybara.* — No. 1690 inoculado a 5.4.38 com 5 ccs. da diluição a 1:10 de virus Asibi por via subcutanea; não foi conseguido o reisolamento do virus no 3º dia. A morte do animal durante a punção cardiaca praticada nesse dia não permitiu a continuação da observação.

*Capivara 1735.* — Inoculada a 12.5.38 com 1 cc. de virus neurotropico a 1:20 por via cerebral. Sangrada a 16.5.38, morreu na sangria, não tendo sido conseguido reisolamento do virus do sangue.

*Capivara 1737.* — Inoculada a 19.5.38 com 2.5 ccs. de sangue de *rhesus* (virus Asibi) por via peritoneal. Amanheceu com abatimento a 3.6, morrendo a 4.6. Camondongos inoculados com cerebro não apresentaram sintomas.

*Capivara 1751.* — Inoculada a 27.5.38 com 1 cc. 5 de emulsão a 1:20 de virus neurotropico apresentou temperatura maxima de 35º8. Amanheceu paralitica a 14.6.38 (Foto. 5), sendo sacrificada, não tendo sido conseguido reisolamento do virus.

### Didelphyidae

*Didelphys aurita.* — Foram realizadas experiencias com nove animais, dos quais tres machos, só em dois casos tendo sido positiva a inoculação.

*Gambá 1615* ♀. — Proveniente de Cerqueira Cesar, Estado de São Paulo. Inoculada a 5.1.38 com 0 cc. 5 de emulsão a 1 : 20 de virus neurotropico por via cerebral. Sangrado no 3º e 8º dias após a inoculação, não foi verificada existencia de virus circulante. A temperatura oscilou entre 35º6 e 36º8 até o 5º dia, subindo a 39º2 no 7º, tendo morrido o animal no 8º dia. A inoculação do cerebro deste animal em camondongos matou-os com encefalite no 7º dia. Com o virus assim reisolado foram efetuadas mais 22 passagens em camondongos, comportando-se normalmente o virus.

Uma outra gambá, No. 1628, da Serra da Cantareira, São Paulo, inoculada a 11.2.38 com 0 cc. 2 de emulsão de virus neurotropico por via cerebral, não apresentou sintomas, tendo morrido a 22.2. Outras verificações não foram instituidas, não ocorrendo elevação termica nas vespuras da morte (temperatura maxima observada 35º7).

*Gambá 1629* ♂. — Proveniente da Serra do Mar, São Paulo. Inoculada a 21.1.38 com 1 cc. 5 de diluição a 1 : 20 do virus Asibi por via subcutanea. Não teve outro sintoma além da elevação termica a 37º no 6º dia, o que é excepcional em didelfideos, cuja temperatura media é de 35º. A tentativa de isolamento do virus circulante a 26.1 foi infrutifera. Como amanhecesse morta a 30.1, foi o cerebro inoculado em camondongos, conseguindo-se isolamento do virus, com o qual foram feitas cinco passagens em camondongos, parecendo o virus estar, inicialmente, bastante atenuado.

Quatro outros exemplares foram inoculados por via subcutanea com diluição a 1 : 20 e 1 : 40 de virus Asibi seco (Nos. 1530 e 1627 ♂ ♂ e 1580, 1661 ♀ ♀) com resultados negativos, quer quanto à infecção, quer quanto ao isolamento do virus circulante, tentado no 3º e no 8º dias após a inoculação. Do 1627, inoculado com o mesmo material e no mesmo dia que o 1629, foi tentado sem resultado o isolamento do virus do cerebro no 28º dia.

Tambem foi negativa a tentativa de infecção com virus Asibi a 1 : 20 e 1 : 40, injetado por via peritoneal, em duas gambás ♀ ♀ (Nos. 1612 e 1675), na dose de 2 ccs.. Tambem neste caso foi infrutifera a tentativa de isolamento do virus circulante já no 3º dia.

Um outro exemplar (No. 1715) foi inoculado a 27.4.38 com solução a 1 : 10 de virus Asibi nos dois testiculos (0 cc. 25 em cada um), não tendo sido conseguido reisolamento do virus quer circulante, tentado a 30.4 e 4.5, quer dos testiculos, ao ser sacrificado a 11.5.38.

*Didelphys paraguayensis*. — Desta especie foram experimentados quatro animais, dos quais tres (Nos. 1284 e 1671 ♂ ♂ e 1672 ♀) injetados com 1 cc. de diluição a 1 : 20 ou 1 : 40 do virus Asibi, por via subcutanea e um (No. 1674 ♂) com 0 cc. 5 de virus neurotropico por via cerebral. Estas inoculações foram negativas nos quatro animais, não tendo tambem dado resultado as tentativas de isolamento do virus circulante feitas no 3º e no 8º dias de inoculação.

*Marmosa spp.* — Foram inoculados tres animais pertencentes a especies diferentes, todos com 1 cc. de virus Asibi em diluição a 1 : 40, por via subcutanea. Apenas o de No. 1576 ♂ apresentou sintomas suspeitos, como paralisia do trem posterior no 15º dia. Sacrificado, porém, e inoculado o sangue, cerebro e figado em camondongos, não foi reisolado o virus.

*Nasua narica* (Coati). — Foram inoculados dois exemplares.

*Coati 1679.* — Inoculado a 25.3.38 com 0 cc. 5 de emulsão a 1 : 20 do virus neurotropico por via cerebral. As tentativas de reisolamento do virus circulante foram frustadas por se ter o sangue mostrado altamente toxico ao ser inoculado em camondongos por via cerebral, matando 70 a 80 % dos animais no mesmo dia da inoculação. A 3.4 manifestou-se inicio de paralisia, que se tornou completa no dia seguinte, quando o animal foi fotografado (Foto. 3) e sacrificado. O cerebro inoculado em camondongos matou a todos com paralisia tipica do 6º ao 7º dias, tendo sido ainda realizadas mais quatro passagens com o virus assim reisolado, comportando-se êle normalmente. A temperatura deste animal elevou-se a 40º5 e 40º4 no 5º e 6º dias, baixando em seguida até 39º1 na vespera de ser sacrificado.

Outro exemplar (No. 1666), capturado pelo nosso Serviço na Serra da Cantareira, em São Paulo, inoculado por via subcutanea com 2 ccs. de soluto a 1 : 20 de virus Asibi, não apresentou sintomas, oscilando a temperatura entre 37º e 38º7. A tentativa de isolamento do virus circulante, feita no 8º dia foi infrutifera.

*Trahira barbara* (Irára). — Foram inoculados dois animais ainda jovens provenientes de Coronel Macedo, Estado de São Paulo.

*Irára 1610* ♂. — Inoculada a 22-12-37 por via subcutanea com 2 ccs. de soluto a 1 : 40 de virus Asibi, não apresentou sintomas de infecção, tendo a temperatura oscilado entre 39 e 40º4 durante os vinte dias em que foi tomada. A tentativa de isolamento de virus circulante não pode ser levada a efeito, por matar o sangue deste animal todos os camondongos com êle inoculados dentro de curto prazo.

*Irára 1609* ♀. — Inoculada a 5.1.38 com 0 cc. 5 de emulsão a 1 : 20 de virus neurotropico por via cerebral. Apresentou inicio de paralisia a 10.1, sendo sacrificada a 14.1.38. A tentativa de reisolamento do virus foi dificultada por se terem mostrado toxicos não só o sangue como também o cerebro deste animal, quando inoculados em camondongos.

*Dasypodidae.* — Tres especies tiveram a sensibilidade pesquisada, num total de 12 animais.

*Cabassous unicinctus.* — "Tatú de rabo mole", No. 1637. Capturado na Serra da Cantareira, em São Paulo. Inoculado a 21.1.38 com 1 cc. 5 de virus

Asibi na diluição de 1 : 20 por via subcutanea. A 26.1 foi sangrado, sendo inoculados tres camondongos por via cerebral, dos quais um se apresentou moribundo, sendo sacrificado para passagem no dia 6.2.. Um outro dos camondongos inoculados com sangue do tatú a 26.1 adoeceu a 10.2, morrendo a 12.2; o restante não teve sintomas de infecção. Com o cerebro do camondongo sacrificado a 6.2 foram inoculados seis novos camondongos que morreram do 8º ao 10º dia com encefalite. Com o virus circulante assim reisolado foram feitas mais onze passagens. A 31.1 foi o tatú novamente sangrado não mais sendo conseguido reisolamento do virus circulante, o mesmo acontecendo a 7.2. O tatú não apresentou sintomas de infecção por virus, vindo a morrer muito mais tarde de infecção intercorrente.

*Dasyfus novemcinctus*. — Tatú 1709 ♂, proveniente da Serra do Mar, São Paulo. Inoculado a 22.4.38 com 0 cc. 5 de virus neurotropico a 1 : 20 por via cerebral. Apresentou inicio de paralisia a 2.5.38, amanhecendo moribundo a 4.5, quando foi sacrificado, havendo a necropsia demonstrando supuração encefalica. A temperatura maxima apresentada foi de 35°5 no 5º dia.

*Tatú 1710* ♀. — Da mesma proveniencia que o anterior. Inoculado com o mesmo material, na mesma data e pela mesma via, amanheceu com contraturas e paralisia completa das patas posteriores a 28.4.38, tendo sido sacrificado nesta data, fazendo-se passagens de sangue, cerebro e figado, cujos resultados foram negativos. A temperatura deste animal nunca chegou a atingir 35°.

*Tatú 1700, 1701 e 1712* ♂ ♂. — Provenientes da Serra do Mar, São Paulo. Inoculados os dois primeiros a 18.4.38 com 2 ccs. 5 e o segundo a 25.4 com 2 ccs. de diluição a 1 : 10 do virus Asibi por via subcutanea. Foram negativas tanto a inoculação quanto as tentativas de isolamento do virus circulante.

*Tatú 1713* ♂. — Inoculado a 25.4.38 com 2 ccs. de diluição a 1 : 10 de virus Asibi por via peritoneal. A pesquisa do virus circulante feita a 29.4 e a 2.5 foi negativa. Sacrificado a 2.5 foi inoculado material de figado e cerebro em camondongos, não tendo sido conseguido isolamento do virus. A temperatura maxima apresentada foi de 35°5.

*Tatú 1744*. — Inoculado a 24.5.38 com 1 cc. de virus neurotropico a 1 : 20 por via cerebral. Sangrado a 27.5.38 não foi conseguido reisolamento do virus. A 2.6.38 apresentou inicio de paralisia, amanhecendo moribundo a 3.6, quando foi sacrificado. Sangue, figado e cerebro foram inoculados em camondongos, sendo reisolado virus do cerebro e feitas passagens.

*Tatú 1752*. — Inoculado a 30.5.38 com 5 ccs. de virus Asibi seco diluido a 1 : 10 por via peritoneal. Sangrado a 1.6 e a 6.6.38. Sacrificado por estar moribundo a 11.6, sendo feitas passagens de cerebro e sangue, sendo inoculado com cerebro o tatú 1753. Foi isolado virus circulante a 1º.6, com ele sendo feitas quatro passagens em camondongo.

*Tatú 1753.* — Inoculado a 11.6.38 com emulsão do cerebro do *tatú 1752* por via peritoneal. Amanheceu morto a 17-6, não tendo sido realizadas outras pesquisas.

*Euphractes sexcinctus*

*Tatú No. 1649* ♂. — Inoculado a 3.2.38 com emulsão de cerebro de camundongos paraliticos, por via subcutanea, nada apresentou de anormal, sendo infrutifera a tentativa feita no 15º dia para isolar virus circulante, tendo as dos 3º e 5º dias falhado por se mostrar o sangue toxico para camundongos.

*Tatú 1711* ♂. — Inoculado a 25.4.38 com virus Asibi nos testiculos não apresentou sintomas de infecção, não tendo sido levadas a efeito outras pesquisas

**Grupos experimentados com resultados negativos**

**Coendidae**

*Coendu prehensilis.* — Dois ouriços desta especie (Nos. 1534 e 1536) foram inoculados por via peritoneal a 6.10.37 com emulsão de figado de *rhesus* com febre amarela (virus Asibi), conservado dois dias a -15º. Não apresentaram sintomas de molestia, sendo negativa a pesquisa do virus circulante no 3º, 8º e 28º dias. A inoculação do figado e cerebro do ouriço No. 1536, morto a 9.11 em camundongos não permitiu o isolamento do virus.

Um outro ouriço da mesma especie inoculado a 1.12.37 com virus Asibi seco, na dose de 2 ccs. da diluição a 1:40, não apresentou sintomas de infecção, tendo sido infrutifera a tentativa de isolamento do virus circulante feita a 3.12. As inoculações de camundongos feitas a 17.12.37 com figado, cerebro e baço deste ouriço, morto espontaneamente nessa data, foram prejudicadas por estar o material contaminado.

**Muridae**

*Nectomys squamipes* BRANTS. — Desta grande ratazana das matas foram inoculados tres exemplares (♂♂ 1541 e 1551 e ♀ 1552), todos com 1 cc. de diluição a 1:40 de virus Asibi por via subcutanea, não tendo havido reação febril ou outros sintomas dentro dos dois meses em que se prolongou a observação em dois deles e um mês em outro (1551).

*Mus musculus musculus.* — Do camundongo domestico foram inoculados onze exemplares (lotes 111, 112 e 261), todos por via cerebral, com emulsão a 1:20 de cerebro de camundongos suissos moribundos na dose de 0 cc. 03. Nenhum deles apresentou sintomas de infecção.

*Rattus norvegicus.* — Desta ratazana foi inoculado 1 exemplar (lote 470) com virus neurotropico, não tendo apresentado sintomas.

*Muridae sp.* — Sete exemplares pertencentes a duas especies diferentes, ainda não identificadas, inoculadas por via cerebral, quatro com 0 cc. 3 e tres com 0 cc. 1 de virus neurotropico, tambem não se mostraram sensiveis à inoculação.

#### Canidae

*Cerdocyon thous azarae* WIED. — Foram submetidos à inoculação com 1 cc. da diluição a 1 : 40 de virus Asibi, por via subcutanea, 7 exemplares de cães do mato, dos quais tres jovens, com poucos meses, provenientes de varias localidades do Estado de São Paulo. A pesquisa do virus circulante, feita no 3º e no 14º dias, foi negativa em todos êsses animais. Além da ligeira ascensão termica, não ultrapassando 39º7, observada na maioria nos dias subsequentes à inoculação, atribuível talvez à excitação dos animais nos primeiros dias de tomada a temperatura, não foram observados outros sintomas. De quatro destes animais, reinoculados, por via cerebral, com 0 cc. 5 de virus neurotropico, no 35º dia, dois apresentaram forte ascensão termica, atingindo até 39º3 em um e 40º6 em outro, sem outras manifestações.

#### Leporidae

*Sylvilagus minensis* 1597 ♀. — Inoculado a 1.12.37 com 2 ccs. de diluição a 1 : 40 de virus Asibi por via peritoneal, não apresentou sintomas durante a observação, tendo sido notada ligeira ascensão termica no 6º dia. A pesquisa do virus circulante, feita já no 2º dia, foi negativa.

#### Bradypodidae

*Bradypus tridactylus*. — Dois exemplares foram inoculados por via peritoneal com 2 ccs. da diluição a 1 : 40 de virus Asibi. Em ambos foi negativa a pesquisa do virus circulante no terceiro dia e em um tambem no decimo dia. Do cerebro e figado de um deles não foi conseguido isolamento do virus no 16º dia. Outro exemplar inoculado por via cerebral com 0 cc. 5 de virus neurotropico morreu dois dias depois, não tendo sido aproveitado.

#### Felidae

*Herpailurus pardinoides* GRAY. — Dois gatos do mato, Nos. 1605 e 1614 foram inoculados respetivamente com 0 cc. 5 de virus neurotropico por via cerebral e com 2 ccs. de virus Asibi a 1 : 40 por via peritoneal. Tentativas de obtenção do virus circulante feitas com o primeiro no 3º e 8º dias foram negativas. O segundo amanheceu morto no 7º dia, não tendo sido conseguido isolamento do virus do figado desse animal, morrendo no proprio dia da inoculação todos os camondongos inoculados com êsse material.

#### Sciuridae

*Sciurus aestuans* ♂. — Um exemplar, No. 1667, inoculado por via subcutanea com 2 ccs. da diluição a 1 : 15 de virus Asibi a 25.2. Não apresentou sintomas de infecção, não tendo sido conseguido isolamento do virus circulante no 8º, 12º e 15º dias.

### CONCLUSÕES

- 1.<sup>a</sup> Não foi conseguido isolamento de virus amarílico natural em animais silvestres, em que foi praticada a pesquisa.
- 2.<sup>a</sup> *Tajassus tajassu*, o pecari ou cateto, é extremamente sensível à inoculação de virus neurotropico por via cerebral, morrendo com paralisia.
- 3.<sup>a</sup> O virus reisolado do cerebro deste suideo não sofreu alterações no seu comportamento em relação aos camondongos sensíveis, salvo leve e passageira atenuação, mesmo após uma segunda passagem em *Tajassus*.
- 4.<sup>a</sup> O virus neurotropico inoculado por via cerebral em *Tajassus* não circula no sangue a partir do terceiro dia, não sendo tampouco infetante o figado do mesmo animal morto de encefalite.
- 5.<sup>a</sup> A passagem do virus neurotropico em serie parece ser possivel no pecari, pois um segundo animal inoculado com o cerebro do primeiro veiu a morrer infetado.
- 6.<sup>a</sup> A inoculação de virus Asibi por via subcutanea na dose de 1 cc. da diluição a 1 : 20 foi negativa no cateto.
- 7.<sup>a</sup> Não foi possivel reisolar o virus Asibi, inoculado por via subcutanea naquela dose em *Tajassus* jovem, a partir do quinto dia.
- 8.<sup>a</sup> *Cavia aperea* ERXL. (*rufescens?*), a preá, pequeno cavideo extremamente comum no Brasil, é sensível à inoculação do virus neurotropico por via cerebral.
- 9.<sup>a</sup> O virus neurotropico reisolado do cerebro da preá não parece sofrer alteração sensível no seu comportamento em relação aos camondongos.
- 10.<sup>a</sup> Não foi conseguido isolamento do virus circulante, 3 dias após a inoculação, em duas preás injetadas por via cerebral com virus neurotropico e em uma inoculada com virus pantropico Asibi, por via peritoneal.
- 11.<sup>a</sup> *Hydrochoerus capybara*, a capivara, é sensível à inoculação do virus neurotropico por via cerebral, apresentando paralisia.
- 12.<sup>a</sup> Os *Didelphydae* parecem pouco sensíveis ao virus amarílico, quer neurotropico, quer pantropico.
- 13.<sup>a</sup> De um *Didelphys aurita* inoculado por via cerebral com virus neurotropico e morto espontaneamente no 8º dia foi isolado virus do cerebro, o qual se mostrou um tanto atenuado para camondongos, embora passageiramente.
- 14.<sup>a</sup> De um *Didelphys aurita* inoculado por via subcutanea com virus Asibi e morto espontaneamente no 9º dia foi reisolado virus do cerebro.
- 15.<sup>a</sup> Não foi conseguido reisolamento de virus circulante em 14 didelfideos inoculados com virus neurotropico ou pantropico.

16.<sup>a</sup> A inoculação de virus Asibi por via testicular em *Didelphys aurita* foi negativa.

17.<sup>a</sup> *Nasua narica*, o coati, é sensível à inoculação do virus neurotropico por via cerebral.

18.<sup>a</sup> Não foi obtida infecção do coati com virus Asibi inoculado por via subcutanea, não tendo sido, tampouco, conseguido isolamento do virus circulante.

19.<sup>a</sup> *Trahira barbara*, a irára, parece ser sensível ao virus neurotropico inoculado por via cerebral, porém não ao pantropico injetado por via subcutanea.

20.<sup>a</sup> Foi obtido isolamento do virus circulante de *Cabassous unicinctus*, o tatú de rabo mole, cinco dias após a inoculação por via subcutanea de 1 cc. 5 de virus Asibi diluido a 1 :20, não apresentando o animal sintomas de infecção.

21.<sup>a</sup> O virus desaparecera do sangue desse *Dasypodidae* já no 10<sup>o</sup> dia após a inoculação.

22.<sup>a</sup> O virus circulante reisolado desse tatú não sofreu alteração do seu comportamento experimental.

23.<sup>a</sup> Dois *Dasypus novemcinctus*, inoculados com virus neurotropico por via cerebral, apresentaram sintomas de paralisia respectivamente no 5<sup>o</sup> e no 9<sup>o</sup> dias, não tendo, porém, sido conseguido quer o reisolamento de virus do cerebro, quer do sangue.

24.<sup>a</sup> Tatús da mesma especie inoculados pelas vias subcutanea e testicular não apresentam infecção, nem virus circulante a partir do 3<sup>o</sup> dia.

25.<sup>a</sup> Foi reisolado virus circulante de um *Dasypus novemcinctus* inoculado dois dias antes com 5 ccs. de virus Asibi a 1 :10 por via peritonal.

26.<sup>a</sup> Foram negativas as inoculações subcutaneas de virus Asibi ou as tentativas de isolamento de virus circulante ou ambas, nas seguintes especies de mamiferos. *Coendu prehensilis*, *Nectomys squamipes*, *Cerdocyon thous azarae*, *Sciurus aestuans*, *Hydrochoerus capybara*, *Didelphys paraguayensis* e *Marmosa* sps.

27.<sup>a</sup> Foram negativas as inoculações intraperitoneais de virus Asibi ou as tentativas de reisolamento de virus circulante dos animais assim inoculados ou ambas, nas seguintes especies: *Sylvilagus minensis*, *Bradypus tridactylus*, *Dasyprocta aguti* e *Herpailurus pardinoides*.

28.<sup>a</sup> Foram negativas as inoculações de virus neurotropico praticadas por via cerebral, bem como as pesquisas de virus circulante, nas seguintes especies: *Mus musculus musculus*, *Rattus norwegicus*, *Muridae* spp., *Herpailurus pardinoides*, *Euphractes sexcinctus*, *Didelphys paraguayensis*.

29.<sup>a</sup> Os resultados negativos obtidos após inoculação cerebral de virus neurotropico em *Mus musculus musculus* demonstram que nesta sub-especie,

a exemplo do que recorre com *Mus musculus albinus*, tambem existem raças de sensibilidade diversa ao virus amarello, o que provavelmente tambem acontecerá a outras especies animais, como parece ser o caso para os gatos domesticos (34).

### BIBLIOGRAFIA

1. Stokes, A.; Bauer, J. H. & Hudson, N. P. — J. Amer. Med. Assn. 90(4):253.1928.
2. Monteiro, J. Lemos — Brasil Medico 44:1087.1930.
3. Aragão, H. de B. — Brasil-Medico 42:727.1928.
4. Findlay, G. M. — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 27(5):437.1934.
5. Nicolau, S. & Baffet, O. — Bull. Soc. Path. Exot. 8:611.1937.
6. Kumm, H. W. — Ann. Trop. Med. a. Parasit. 26(2):297.1932.
7. Kuczinski, M. H. & Hohenadel, B. — Lancet 218:180.1930.
8. Sellards, A. W. — South. Med. Journ. 23(2):121.1930.
9. Dinger, J. E.; Schüffner, W. A. P. & Snijders, E. P. — Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. 119:1.1931.
10. Sawyer, W. A. & Frobisher, M. — 1.<sup>er</sup> Congrès Inter. Microbiol., Paris 2:476.1932.
11. Theiler, M. — Amer. Journ. Trop. Med. 13(4):399.1933.
12. Stephanopoulo, G. J. & Wassermann, R. — Bull. Soc. Path. Exot. 26(4):557.1933.
13. Lloyd, W. D. M.; Penna, H. A. & Mahaffy, A. — Amer. Journ. Hyg. 18(2):323.1933.
14. Stephanopoulo, G. J. — Ann. Inst. Pasteur 52(5):553.1934.
15. Nicolau, S.; Mathis, M. & Baffet, O. — C. R. Soc. Biol. 122(17):203.1936.
16. Findlay, G. M. & Stern, R. O. — Journ. Path. a. Bact. 40(2):311.1935.
17. Findlay, G. M. — Journ. Path. a. Bact. 38(1):1.1934.
18. Nicolau, S.; Kopciowska, L.; Mathis, M. & Baffet, O. — C. R. Soc. Biol. 116:820.1934.
19. Cowdry, E. V. & Kitchen, S. F. — Amer. Journ. Hyg. 11(2):227.1930.
20. Lloyd, W. D. & Penna, H. A. — Amer. Journ. Trop. Med. 13(1):1.1933.
21. Findlay, G. M. — Journ. Path. a. Bact. 38(1):1.1934.
22. Laigret, J. — C. R. Acad. Sciences 196(7):508.1933.
23. Stephanopoulo, G. J.; Mollaret, P. & Desnos, E. — Bull. Soc. Path. Exot. 27(9):816.1934.
24. Findlay, G. M. — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 27(5):437.1934.
25. Findlay, G. M. & Clarke, L. P. — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 28(2):193.1934.
26. Findlay, G. M. & Clarke, L. P. — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 28(3):335.1934.
27. Theiler, M. & Smith, H. H. — Journ. Exper. Med. 63(6):787.1937.
28. Thiroux, A. — Presse Médicale 45(76):1349.1937.
29. Findlay, G. M.; Hewer, T. F. & Clarke, L. P. — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 28(4):413.1935.
30. Stephanopoulo, G. J.; Nagano, J. & Wassermann, R. — Bull. Soc. Path. Exot. 30(10):892.1937.
31. Sawyer, W. A. & Frobisher, M. — 1.<sup>er</sup> Congrès Intern. Microbiologie, Paris 2:476.1930.
32. Whitman, L. — Journ. Immunology 29(2):99.1935.
33. Sawyer, W. A.; Lloyd, W. D. & Kitchen, S. F. — Journ. Exper. Med. 50(1):1.1929.
34. Fonseca, F. da & Artigas, P. — C. R. Soc. Biol. 129(34):1143.1938 et Mem. Inst. Butantan 12: .1939.

(Trabalho da Secção de Parasitologia e Protozoologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em Junho de 1939).





Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

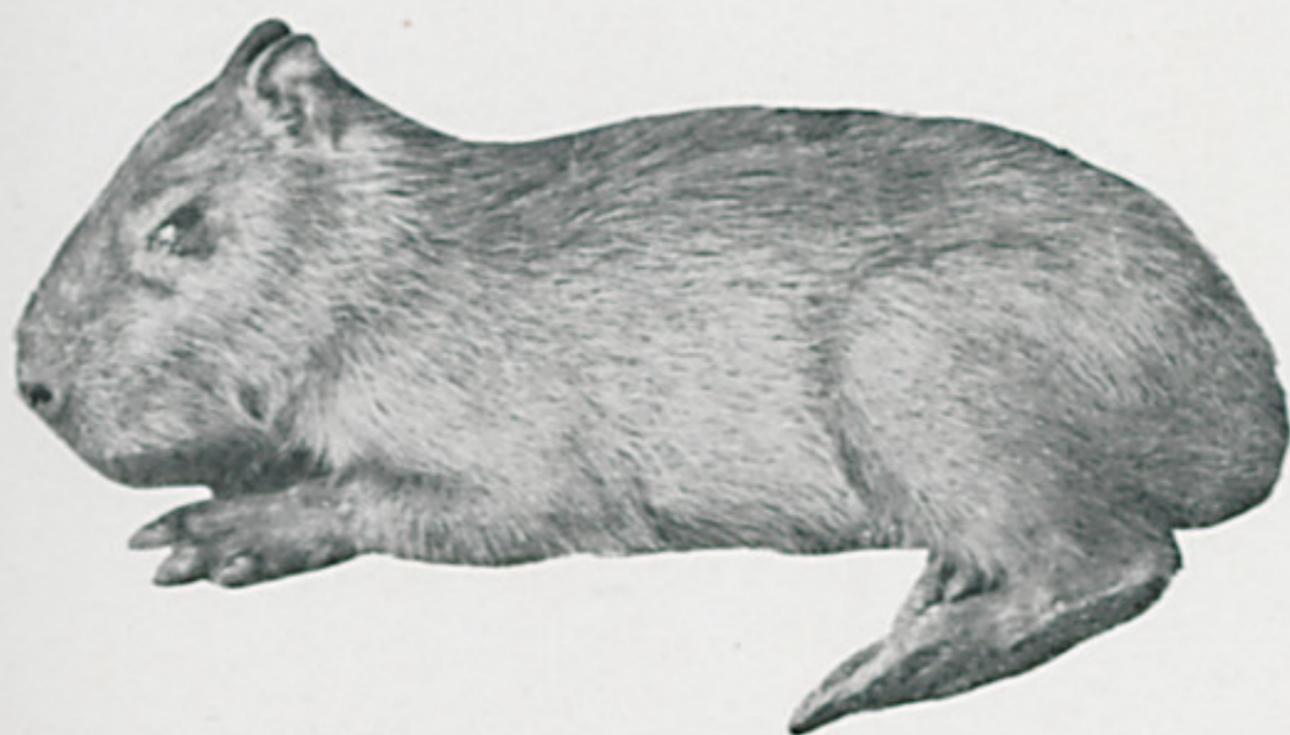


Fig. 5

