SUSCETIBILIDADE DE *CEBUS VERSUTA* ELLIOT AO VIRUS DA PORADENITE INGUINAL (*)

LUIS DE SALES GOMES
Chefe da Sub-divisão de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz

F. BARROS MAGALDI JORDÃO
Técnica de laboratorio do Instituto Adolfo Lutz

A primeira referência à transmissão do virus da poradenite inguinal a símios parece ter sido a de Bellard e Uribe [1], consubstanciada numa contribuição ao estudo da moléstia, apresentada ao IV Congresso Venezuelano de Medicina, reunido em 1925. Nesse trabalho, infelizmente pouco divulgado, os autores referem ter conseguido a reprodução experimental da linfogranulomatose inguinal em "macaco capuchinho" *(Cebus capuchinus)*, duas semanas após a inoculação de puz inguinal humano na região prepucial do macaco.

Hellestrom e Wassen [2], alguns anos depois, anunciam o isolamento do virus, conseguindo infectar, por via transcraniana, *Macacus rhesus* e *Macacus cynomolgus*.

A seguir, foi verificada, quer por inoculação prepucial quer intracraniana, a sensibilidade de numerosas outras espécies como sejam: *Macacus innus, Cercocebus fuliginosus* e *Cynocephalus babuin*, por Levaditi e colaboradores [3]; *Cebus fatuellus* (capuchinho castanho), *Callithrix jaccus* (mico comum), *Cebus penicillata, Cercopithecus callithrix, Cebus capuchinus, Cebus chrysopus, Hapale penicillata* e *Erythrocebus patas*, por Findlay [4]; *Cercopithecus sabaeus*, por Caminopetros, Phylactos e Photakis [5]; *Troglodytes niger* (chipanzé), por Levaditi, Mollaret e Reinié [6]; *Macacus fuscatus*, por Miyagawa e colaboradores [7].

Entre os diversos símios pertencentes ao gênero *Cebus* e existentes nas matas do Estado de São Paulo, um dos mais encontradiços é

* Recebido para publicação em 24-2-1942.

sem dúvida *Cebus versuta* Elliot [8], que, segundo a autorizada opinião de O. Pinto [9], é a espécie comum das zonas setentrional e ocidental de S. Paulo, bem como da região oeste do Estado de Minas Gerais.

FIG. 1

Cebus versuta Elliot ♀ (n.º 1)

De captura relativamente facil e, por isso, de aquisição pouco onerosa, pensámos na possibilidade de se prestar este símio ao fornecimento regular de antígeno poradênico para ser utilizado em reações intradérmicas (reação de Frei) para diagnóstico da moléstia de Nicolas-Favre em suas múltiplas manifestações.

De posse de um casal dessa espécie símia, que nos foi enviado da região norte do Estado, iniciámos nossas experiências orientadas no sentido de verificar sua suscetibilidade à moléstia. Para isso utilizámos como fonte de virus a amostra "Barc." isolada anteriormente por um de nós (L. S. Gomes) [10] e que vinha sendo mantida por passagens em cérebro de camondongos brancos. A via de inoculação foi a intra-cerebral.

Os resultados desssa experiências são os seguintes:

INOCULAÇÃO DE VIRUS PORADÊNICO NO CÉREBRO DE *CEBUS VERSUTA* ♀ (N.º 1)

Exemplar fêmea pesando 2.200 grs. (ver Fig. 1). Recebeu, intracerebralmente, 0,4 cc. de suspensão de cérebro de camondongo (4.ª passagem) diluido a 10% em soro fisiológico esteril e controlado, no momento, quanto à virulência (série de camondongos) e quanto à esterilidade para bactérias aeróbias e anaeróbias (meios de cultura).

Obs.

2.º dia: A temperatura atingiu 40ºC., tendo o animal rejeitado alimento, apresentando contudo certa vivacidade.

3.º dia: Idem.

4.º, 5.º dias: Houve ligeira baixa térmica. O símio alimenta-se regularmente e mostra-se esperto.

6.º, 7.º e 8.º dias: Temperatura alta, de novo, e oscilante entre 39º,6 e 40º2 C.. Estado geral bom.

9.º dia: Foi feita colheita de sangue venoso para pesquisa de virus circulante (Temp. 40ºC.).

A temperatura continuou ainda alta, até o 15.º dia, tendendo a normalizar-se durante alguns dias, após os quais elevou-se ainda a 39º, 8 para cair, depois, definitivamente na normal (Fig. 2).

Durante a infecção o macaco manteve-se sempre vivaz, acompanhando com o olhar os menores movimentos desenvolvidos à sua visinhança. Nenhum esboço de paralisia nem de contratura muscular. Certo grau de inapetência e febre eram os únicos sinais de moléstia. Peso 25 dias após a inoculação — 1.700 grs. (deficit = 550 grs.).

Pesquisa de virus circulante — O sangue venoso colhido no 9.º dia de infecção, depois de desfibrinado, foi testemunhado quanto à esterilidade para bactérias, e inoculado no cérebro de camon-

dongos brancos. Um primeiro grupo recebeu cerca de 0,02 cc. de sangue puro; o outro grupo recebeu a mesma quantidade de sangue diluido a 1:3 em sol. fisiológica. Todos os camondongos adoeceram 4 dias após a inoculação, tendo o exame histológico do cérebro dos que foram sacrificados demonstrado a existência de uma meningite monocitária discreta.

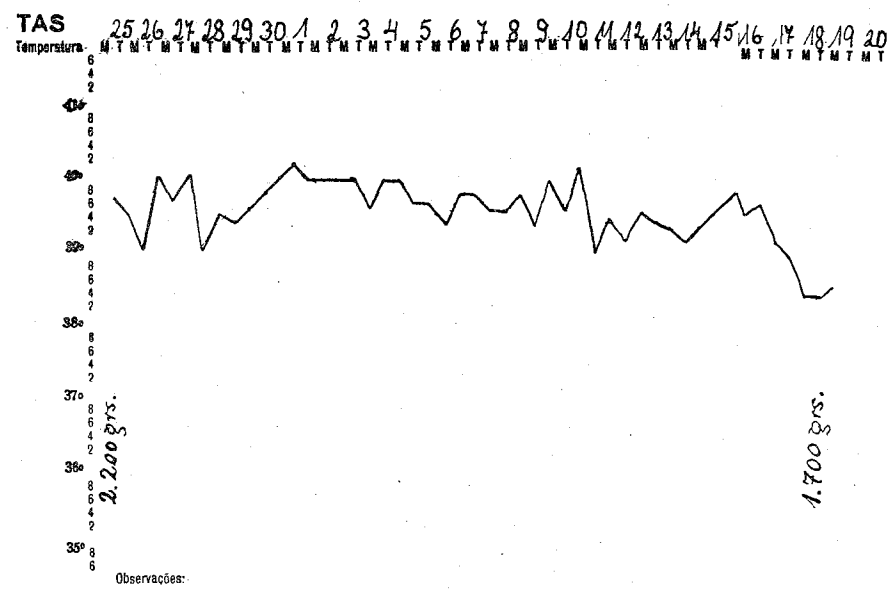

FIG. 2

Curva térmica de *Cebus versuta* n.º 1

Um outro camondongo do 2.º grupo, 50 dias após a inoculação, embora aparentemente são, apresentava ainda sinais histológicos de uma meningo-encefalite residual discreta (ver corte da Fig. 3).

Por outro lado, devemos esclarecer que esta amostra de virus circulante não resistiu a mais de 3 passagens em série, tornando-se, na 4.ª, completamente avirulenta.

Do conjunto dessas observações verifica-se que o virus poradênico circulou no símio experimentado, sendo a presença desse virus revelada no sangue, por meio da inoculação deste em cérebros de camondongos brancos e por meio de passagens.

As lesões inflamatórias de tipo discreto encontradas nos camondongos, bem como a perda precoce de virulência nas passagens,

explicar-se-iam provavelmente pela carga mínima de virus que os glóbulos brancos do sangue poderiam carregar, de acordo, aliás, com as conclusões de Levaditi, Ravaut, Lépine e Schoen [11], e de Levaditi e Reinié [12].

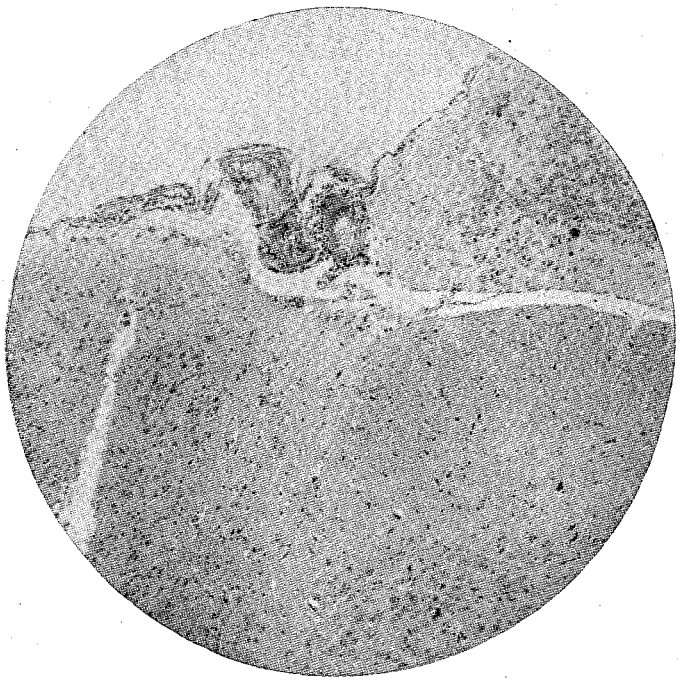

FIG. 3

Meningo-encefalite residual discreta, em camondongo inoculado com sangue de *Cebus versuta* n.º 1, e sacrificado 50 dias após a inoculação. 110 x

Vários são os tipos de infecção experimental por virus poradênico, em macacos inoculados no cérebro: *agudo, sub-agudo* e *crônico.* Alem destes, referem-se Levaditi e colaboradores *(op. cit.)* à forma *inaparente* na qual certos animais, embora infectados com amostra virulenta, não deixam transparecer nenhum sintoma patológico manifesto durante 30 ou 40 dias de observação. Mas, sacrificados ao fim deste tempo, mostram, entretanto, na massa encefálica, alem de alterações típicas, abundante quantidade de virus revelada pelo forte poder antigênico das suspensões cerebrais.

O tipo de infecção experimental que acabamos de ver em nosso *Cebus* 1, poderia ser classificado como um *tipo crônico-febril*: febre,

queda acentuada do peso e tempo de duração da moléstia, entre 3 e 4 semanas. Sobrevivência do animal.

INOCULAÇÃO DE VIRUS PORADÊNICO NO CÉREBRO DE *CEBUS VERSUTA* ♂ (N.º 2)

O exemplar macho utilizado nesta segunda série de experiências é o que se acha representado na Fig. 4. Peso: 4.500 grs.. Recebeu no cérebro 0,4 cc. de suspensão de cérebro de camondongo (36.ª passagem), diluido a 10% em soro fisiológico e controlado, no momento, quanto à virulência — em série de 6 camondongos, e quanto à esterilidade para bactérias — em meios comuns de cultura.

Devemos anotar que a amostra "Barc.", de virus poradênico, embora já em 36.ª passagem, encontrava-se em ótimas condições de virulência, o que se poderá verificar da ficha representada na Fig. 5. E perfeitamente virulenta ela ainda se mantem até o momento em que escrevemos este trabalho (60.ª passagem).

Após a inoculação, apresentou o *Cebus* 2, em resumo, a seguinte sintomatologia infecciosa:

Obs.

2.º dia: Pouca mobilidade, tristeza, cabeça abaixada até à proximidade do plano horizontal inferior da gaiola. Rejeitou alimento. Temp. máx. 39º,4C..

3.º dia: Comeu duas bananas. Continua com a cabeça abaixada e sente tremores. Hemiplegia esquerda.

4.º dia: Manifesta fome, mas tem dificuldade de abrir a boca para tomar o alimento.

5.º dia: O animal não se mantem mais sentado; está sempre deitado. Apresenta, de espaço a espaço, nos músculos ainda ativos, fortes contraturas. Os maxilares continuam serrados. Foi sangrado na veia safena e o sangue, posteriormente, inoculado em 6 camondongos.

7.º dia: Mesma atitude do dia anterior. Fotografia (ver fig. 6)

9.º dia: Baixa brusca da temperatura, a 35º,5C. e morte. Peso: 2.500 grs. (deficit no peso = 2.000 grs.).

Durante a infecção a temperatura oscilou entre 38º,4C. e 39º,2C., descendo lentamente até a véspera da morte, quando então baixou bruscamente a 35ºC. (ver quadro térmico da Fig. 7).

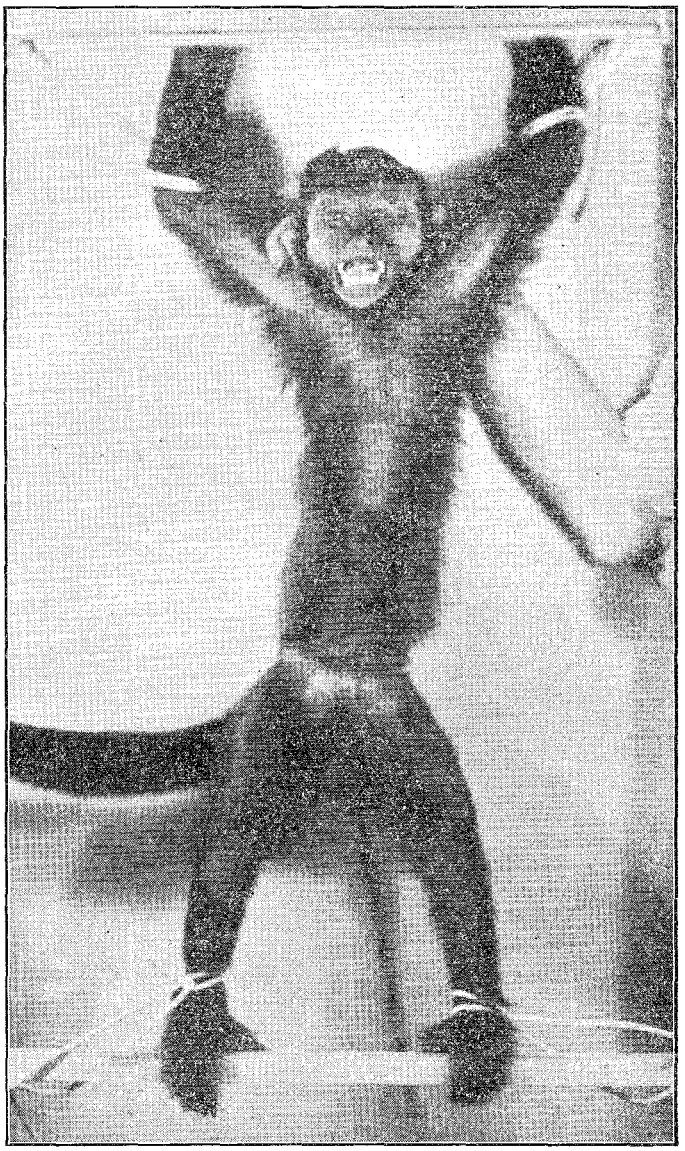

FIG. 4

Cebus versuta Elliot ♂ (n.º 2)

Fraticamente, pode-se dizer que não houve febre, pois, segundo verificações por nós feitas, em macacos desta espécie e em *rhesus*, a temperatura retal normal oscila entre 38º e 39º,2 C..

A infecção desenvolvida em *Cebus* 2, como se vê, enquadra-se no chamado tipo agudo que é o mais habitual da forma meningo-encefálica.

À necrópsia foram colhidos fragmentos de órgãos e, com as possíveis precauções de assepsia, toda a massa encefálica para ser utilizada na preparação de suspensões virulentas para passagens, na preparação de antígenos e na de cortes histológicos. Os resultados dessas provas e exames serão adeante relatados.

Pesquisa de virus circulante — Como no símio anterior, neste tambem foi comprovada a existência do virus circulante. Esta comprovação foi feita pela inoculação de sangue colhido durante a moléstia, em série de camondongos.

Não deixa de ser interessante o fato de se poder surpreender o virus em circulação, mesmo quando o animal não acusa hipertermia, como é o caso deste segundo *Cebus*. Aliás, essa dispersão do virus no organismo correria por conta (segundo a opinião já citada de Levaditi e Reinié) dos glóbulos brancos do sangue.

Mas, tal como se déra com a amostra circulante do *Cebus* 1, a presente amostra tambem degenerou, não resistindo a mais de 3 passagens.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ
SECÇÃO DE VIRUS

MATERIAL INOC. Virus poradênico
PROCEDÊNCIA "Barc". - Sta. Casa
LOTE DE CAMONDONGOS
N.º DE CAMONDONGOS INOC. 6
N.º DE PASSAGENS 36a.
DATA DA INOCULAÇÃO 16-2-41
OBSERVAÇÕES

Cam	Data	18	19	20	21	22	23	24	25	26										Cult.	Observações
	Dias	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
1				S																		
2				D	S																	
3				D	D	D	+															
4				D	D	D	D	D	+													
5				D	D	D	D	D	+													
6					D	D	D	D	+													

+ = Morto; D = Doente; M = Moribundo; S = Sacrificado; N = Normal fim observ.

FIG. 5

Ficha mostrando a atividade do virus poradênico (amostra Barc.) num lote le 6 camondongos (36.ª passagem).

Prova de virulência do cérebro — Suspensão de cérebro do *Cebus* 2, foi inoculada em série de 6 camondongos, tendo estes apresentado, alguns dias depois, sinais de moléstias e, ao exame histológico do cérebro, meningo-encefalite.

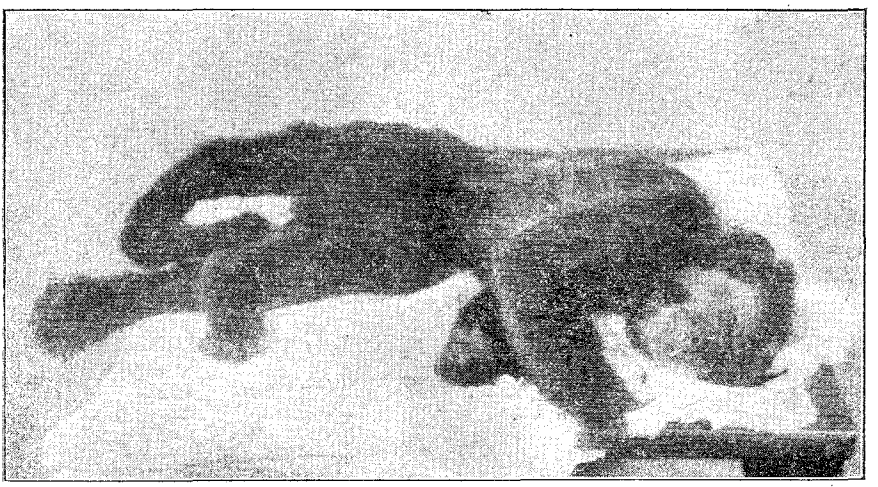

FIG. 6

Cebus versuta n.º 2, 7 dias após a inoculação do virus poradênico de passagem. Paralisia do lado esquerdo.

Esta amostra "Barc.-Cebus" vem sendo mantida em camondongos até a presente data, estando já na 25.ª passagem e em condições de ótima virulência.

Prova da ação antigênica do cérebro — O antígeno de cérebro de *Cebus* 2, preparado segundo a técnica comum (suspensão a 20% e a 10% em sol. fisiológica e inativação a 60° C., durante 1 hora, dois dias), foi largamente usado em intradermo reações de Frei, em casos de poradenite inguinal e de retite estenosante poradênica, paralelamente comparado com antígenos preparados com puz inguinal humano.

A equivalência de um e outro antígenos na positividade das reações diz bem claro da presença e da multiplicação do virus no cérebro do macaco.

Na fotografia da Fig. 8 pode-se confrontar a ação dos dois antígenos (de *Cebus* 2 e humano), num caso de linfogranulomatose de Nicolas-Favre. Vê-se aí que o antígeno símio (b) deu reação intradérmica tão fortemente positiva quanto o antígeno humano (a).

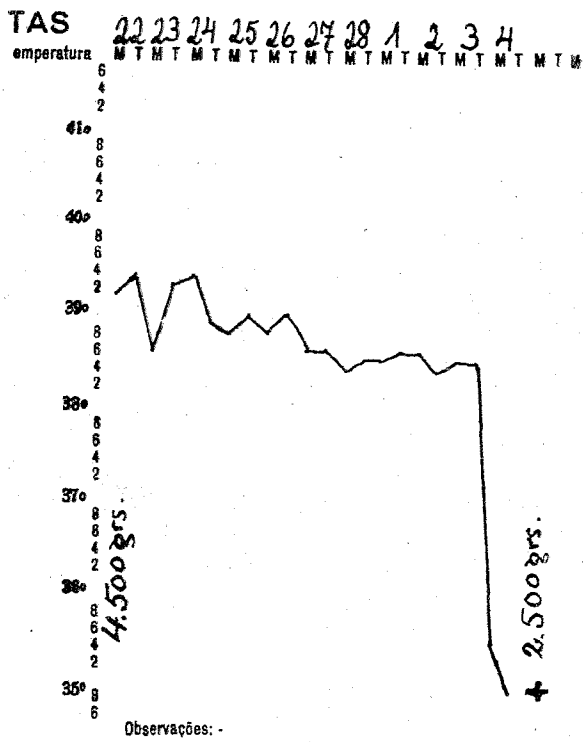

FIG. 7

Curva térmica de *Cebus versuta* n.º 2

Exames histo-patológicos — Durante o exame necroscópico que se seguiu à morte do animal, colhemos, com as cautelas possíveis de assepsia, toda a massa encefálica para exames histológicos e para preparação de antígeno. Ainda para exames histológicos, retiramos pequenos fragmentos de cada um dos demais órgãos do animal.

A Fig. 9 representa a microfotografia de um corte de cérebro deste macaco, podendo-se verificar nele a existência de *meningite intensa, cortical e septal, alem de focos discretos de encefalite.*

Alterações importantes foram tambem notadas nos cortes de rim, alterações estas consubstanciadas numa *glomerulo-nefrite aguda*

conforme se verifica da microfotografia representada na Fig. 10. Estas lesões renais merecem aquí um registo especial, porquanto não as vimos ainda assinaladas nos autores que têm se ocupado com o estudo experimental deste virus, e cujas publicações se acham ao alcance das nossas vistas.

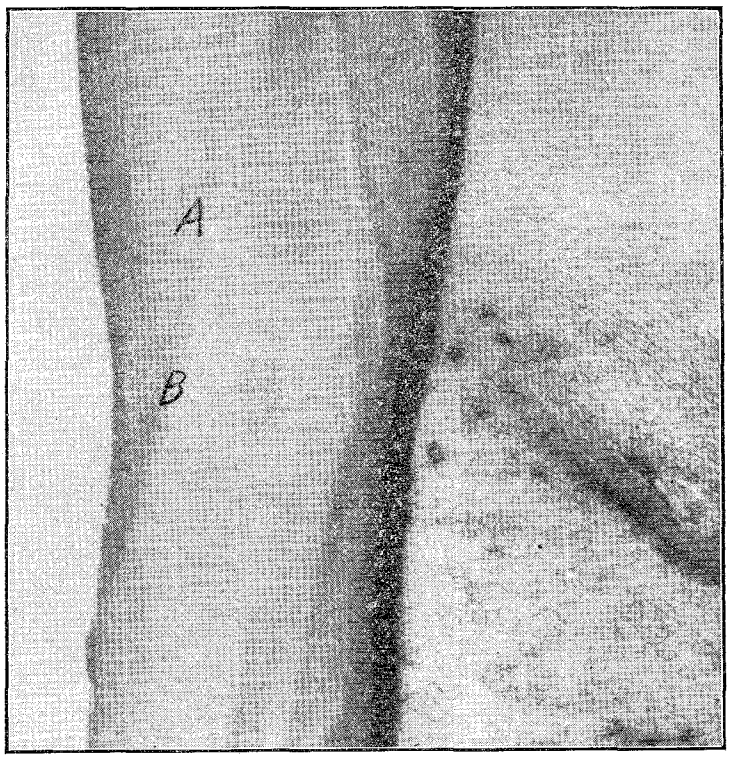

FIG. 8

Reações de Frei positivas, obtidas com antígeno humano (A) e com antígeno cerebral de *Cebus versuta* n.º 2 (B), em doente de 4.ª moléstia venérea.

Nos cortes dos demais órgãos nada digno de nota foi encontrado.

Somos muito gratos pelas atenções dispensadas às nossas consultas, aos distintos colegas Dr. Olivério Pinto, Ilustre diretor do Depart. de Zoologia, da Secretaria da Agricultura de S. Paulo, e Dr. João Montenegro, digno chefe da secção de anatomia patológica do Instituto Adolfo Lutz.

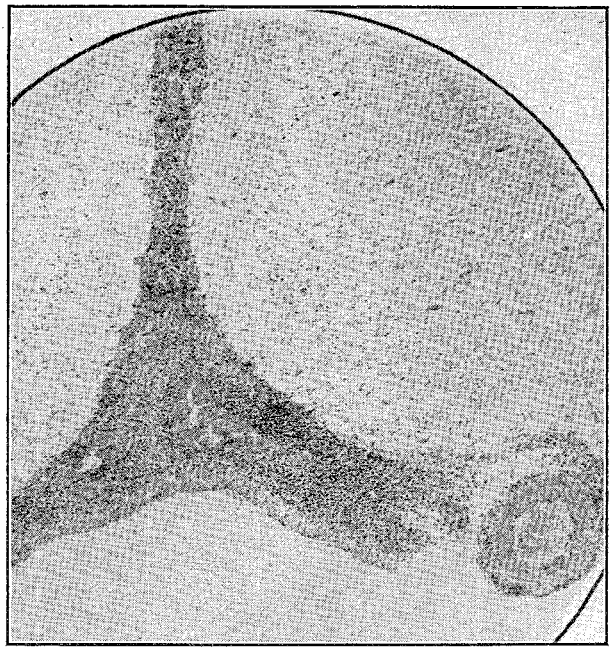

FIG. 9
Corte de cérebro de *Cebus versuta* n.º 2. Meningite intensa, cortical e septal. Focos discretos de encefalite. 110 x

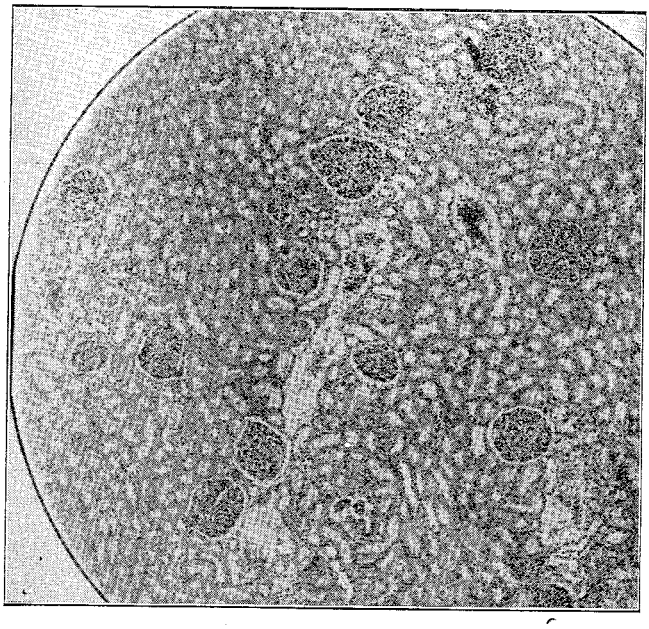

FIG. 10
Corte de rim de *Cebus versuta* n.º 2. Glomerulo-nefrite aguda. 110 x

RESUMO

Depois de reverem, ligeiramente, vários gêneros e espécies de macacos sensíveis ao virus da poradenite inguinal (Moléstia de Nicolas-Favre), fazem os A. A. uma série de experiências e pesquisas no sentido de demonstrar a suscetibilidade ao referido virus, de uma espécie símia comum nas zonas norte e ocidental do Estado de S. Paulo: *Cebus versuta* Elliot.

Dois macacos desta espécie (♀ e ♂), inoculados intra-cerebralmente com virus poradênico de passagem em camondongo, apresentaram tipos de infecção diversos:

1º. — *Cebus versuta* ♀. Febre e perda de peso foram os únicos sintomas de infecção. A febre durou cerca de 25 dias, após os quais o macaco sarou. Este tipo infeccioso poderia talvez ser classificado como *crônico-febril.*

No 9.º dia da moléstia (temp. 40ºC.) foi sangrado na veia sendo demonstrada a presença de virus circulante, por meio de inoculação deste sangue em cérebro de camondongos. O virus do sangue manteve-se ativo durante 3 passagens, degenerando depois.

2.º — *Cebus versuta* ♂. Apresentou um tipo infeccioso agudo, acompanhado de paralisias, de grande perda de peso e de morte no 9.º dia. No sangue deste exemplar foi demonstrada, tambem a presença de virus circulante, até 3.ª passagem em camondongo.

O cérebro mostrou-se virulento para camondongos e, em suspensão antigênica morta, deu reações de Frei positivas em doentes de poradenite inguinal e de retite estenosante.

Cortes de cérebro deste macaco demonstraram a existência de menigite intensa, cortical e septal, alem de focos discretos de encefalite.

Cortes de rim mostraram a presença de glomérulo-nefrite aguda. Os A. A. chamam a atenção para este ataque do virus ao rim, fato que parece não ter sido ainda assinalado em infecções experimentais com este virus.

SUMMARY

After a quick review of the several genuses and species of monkeys susceptible to infections by the virus of the inguinal poradenitis (disease of Nicolas-Favre) the A. A. carried on a series of experiments and researches in order to show the susceptibility to such virus infection by a species of monkey commonly found in the Occidental and Northern zones of the State of S. Paulo (Brazil), the so-called *Cebus versuta* Elliot.

Two monkeys of such species (♀ and ♂) when inoculated by the intra-cerebral route with the poradenitis virus obtained from man through serial intra-cerebral inoculation in mice, presented different types of infection.

1.º — *Cebus versuta* ♀. The only symptom was fever and loss of weigth. The fever lasted about 25 days after which the monkey got well. This type of infection migth perhaps be classified as *chronic febrile.*

In the 9th day of disease (temp. 40ºC.) it was bled from the vein and the virus was demonstrated in the circulating blood by intra-craneal inoculations in mice. The blood virus kept its power to the third inoculation series thereafter loosing the disease producing properties.

2.º — *Cebus versuta* ♂, had an acute type of infection followed by paralysis, great loss of weight and death in the 9th day. In the blood of this specimen the presence of the virus was also demonstred.

The brain of this monkey inoculated in mice produced the disease and the dead antigenic suspensions of the same material gave positive Frei reaction in patients with inguinal poradenitis and stenosing rectitis.

Microscopical sections of the brain of this monkey showed heavy meningitis both cortical and septal, besides discret encephalitis foci.

In the kidneys was found an acute glomerulo-nefritis. The A. A. call attention to the kidney lesions caused by the virus, a fact, they think, so far not mentioned in experimental work with such virus.

BIBLIOGRAFIA

1 — BELLARD e URIBE — 1925, *Apud Findlay* (Trans. *R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 27 (35) June 1933).

2 — HELLERSTROM, S. e WASSEN, E. — 1930, 7.° Congr. Int. Derm. Syph. Copenhage, Agosto.

3 — LEVADITI e COLAB. — 1932, *Ann. Inst. Pasteur,* 48 (27).

4 — FINDLAY, G. M. 1932, *The Lancet,* 2 (11).
1933, *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 27 (35) June.

5 — CAMINOPETROS, PHYLACTOS e PHOTAKIS — 1932, *C. R. Soc. Biol.,* CX (445).

6 — LEVADITI, MOLLARET e REINIÉ — 1935, *Bull. Ac. Med.*, 113 (439).

7 — MIYAGAWA, Y. e COLAB. — 1935, *Jap. Journ. of Exp. Med.*, 13 (1).

8 — ELLIOT — 1910, *Ann. Mag. Nat. Hist.*, V (77) 8th Fev.

9 — PINTO, OLIVERIO — 1941, "Papeis avulsos" do Dep. Zool. Secr. Agric. S. Paulo, 1 art. 15 (111) Março.

10 — S. GOMES, LUIS DE — 1940, *Brasil Médico,* Ano LIV, n.º 47 (777) Nov. 1940, *Rev. da Ass. Paulista de Med.*, XVII, n.º 4 (33) Outubro.

11 — LEVADITI, RAVAUT, LÉPINE e SCHOEN — 1931, *C. R. Soc. Biol.,* 107 (959).

12 — LEVADITI e REINIÉ — 1933, *C. R. Soc. Biol.,* 118 (123).