

# APLICAÇÃO DA REAÇÃO DE BENGTSON AO DIAGNÓSTICO DAS RIQUETSIOSES BENIGNAS EM SÃO PAULO

por

PLÍNIO M. RODRIGUES  
*Do Instituto Adolfo Lutz*

e

J. TRAVASSOS  
*Da Secção de Virus e Riquetsias do Instituto Butantan*

No Brasil, o estudo das riquetsioses só veio a despertar o interêsse da classe médica em geral a partir de 1929. Naquele ano, foram observados, em São Paulo, vários casos duma doença tifo-exantemática grave, de elevada mortalidade e com caraterísticos epidemiológicos evidentes de entidade nosológica autóctone.

Os casos de tifo exantemático por vêzes observados, anteriormente àquela data, entre recém-chegados ao país e que ocorriam, geralmente, ou a bordo de navios, ou nos serviços de quarentena de nossos portos de mar, haviam atraído a atenção tão somente dos técnicos incumbidos da inspecção de saúde dos imigrantes.

Muito antes de 1929, porém, casos esporádicos de tifo exantemático já haviam sido assinalados, mesmo entre brasileiros, não só na capital, como nos municípios do interior do Estado de S. Paulo. Dados colhidos nos relatórios de Adolpho Lutz, então diretor do Instituto Bacteriológico de S. Paulo, informam terem ali sido autopsiados 2 casos da enfermidade em 1900, 1 em 1905 e 2 em 1906. Do registro do Hospital do Isolamento da Capital, hoje Hospital Emílio Ribas, constam 7 casos diagnosticados como tifo exantemático e tifo petequial, anteriores a 1929, dos quais 2 ocorridos entre naturais do país. Igualmente, nos registros de óbitos verificados em municípios do interior do Estado, encontram-se referências a vários casos de tifo exantemático, a partir de 1906.

Quase todos êsses casos foram diagnosticados clinicamente, pois só de 1920 em diante o Instituto Bacteriológico começou a proceder à reação de Weil-Felix, o que deu lugar à primeira publicação sôbre o assunto, por parte de ULHÔA CINTRA e PIZA (1920).

O caráter de doença autóctone, revelado pelo estudo epidemiológico dos casos ocorridos desde 1929, levou as diferentes instituições científicas de S. Paulo a encetar pesquisas em tórno do assunto. Não podendo, de início, identificar a doença tifo-exantemática, então endêmica na cidade, a qualquer outro tipo de riquetsiose conhecida, PIZA e colab. (1931) deram-lhe, a título provisório, o nome de "tifo exantemático de S. Paulo". Mais tarde, veio a enfermidade a ser conhecida, na literatura médica anglo-americana, sob a designação de "S. Paulo typhus". Pesquisas ulteriores levadas a efeito em S. Paulo por L. MONTEIRO (1933), FRÓES (1935) e TRAVASSOS (1939) e nos Estados Unidos, por PARKER e DAVIS (1933, 1933a), DYER (1933) e DAVIS e PARKER (1933), porém, identificaram a riquetsia isolada do sangue dos doentes à *Rickettsia (Dermacentroxenus) rickettsi*, agente etiológico da "Rocky Mountain spotted fever", que ocorre na América do Norte. Estudos epidemiológicos intensivamente realizados, tanto na capital como no interior do Estado por VIEIRA e MESQUITA (1934) e PASCALE (1949), estabeleceram o caráter rural ou semi-rural da infecção. Desde logo, algumas espécies de ixódidas do gênero *Amblyomma*, encontradas naturalmente infectadas (SALLES GOMES, 1933 e TRAVASSOS, 1938) foram incriminadas como transmissoras da doença ao homem.

De outro lado, já desde 1939, vinham sendo esporadicamente observados, na cidade de S. Paulo, casos de uma infecção tifo-exantemática, com reação de Weil-Felix positiva a altos títulos e cuja evolução benigna contrastava com a malignidade dos casos provenientes da zona semi-rural.

A história dessa infecção benigna, de caráter essencialmente urbano, excluía, em numerosos casos, qualquer possibilidade de exposição do paciente à picada por ixódidas nas duas semanas que precediam a doença. Tais fatos chamaram a atenção dos técnicos do Serviço de Epidemiologia do Departamento de Saúde do Estado, os quais logo iniciaram estudos mais detalhados sôbre êsses casos. Alguns doentes eram pessoas que tinham contato freqüente com pulgas e ratos, por força de suas atividades em armazéns de cereais, onde os murídeos eram abundantes. Havia, em geral, uma relação entre o índice pulicidiano dos ratos e a ocorrência dêsses casos benignos de tifo-exantemático. Era nas zonas em que êsse índice ultrapassava o valor 7 que apareciam, com mais freqüência, os casos da doença.

Quatro casos foram constatados entre funcionários do Serviço de Controle da Peste, encarregados da captura de ratos na cidade de S. Paulo, assim como da manipulação dêsses roedores no laboratório (comunicação pessoal de SAMPAIO CORREA). No entanto, as tentativas então, 1937, realizadas por um de nós (J. T.) no Instituto Butantan, com o fim de identificar a riquetsia em causa, não foram coroadas de êxito. SALLES GOMES (1941) estudou 3 dêsses casos e os considerou como "casos prováveis de tifo endêmico ou murino".

Já, anteriormente, MONTEIRO e FONSECA (1932) haviam isolado, do cérebro de ratos capturados em uma casa da zona urbana de S. Paulo, várias amostras de riquetsias. Aventaram aquêles autores, então, a hipótese de ocorrer, em S. Paulo, casos humanos de uma outra riquetsiose que não a febre maculosa, a qual seria de origem murina e por cuja transmissão seriam responsáveis os pulicídeos. Serviram de base para essa hipótese argumentos de ordem diversa. De um lado, os resultados das pesquisas levadas a efeito com as amostras isoladas dos ratos, as quais, por seu comportamento experimental na cobaia e mediante provas de imunidade, se distinguiam da *Rickettsia brasiliensis*, designação então adotada para o agente etiológico do "tifo exantemático de S. Paulo"; de outro lado, a observação de ter ocorrido, na mesma casa em que os ratos haviam sido capturados, um caso de doença febril exantemática, de evolução benigna, com reação de Weil-Felix positiva a alto título.

Tendo o Instituto Adolpho Lutz passado a praticar, a partir de 1933, a reação de Weil-Felix, com o material que lhe era remetido para a reação de Widal pelos numerosos Postos e Centros de Saúde da capital e do interior do Estado, foram encontrados vários soros que aglutinavam o *Proteus* OX19, alguns dêles em diluições mais elevadas que 1/1.000. Reações realizadas com soros de diferentes sangrias efetuadas em um mesmo paciente, durante a evolução da enfermidade, mostravam, em vários casos, elevação gradual dos títulos de aglutinação do *Proteus* OX19.

Êsses soros positivos eram de pessoas residentes quer em zonas urbanas da capital ou do interior do Estado, quer em zonas rurais. O inquérito feito pelo Serviço de Epidemiologia do Departamento de Saúde, Diretoria da Capital, mostrou que a maioria dos pacientes residia ou trabalhava em locais ou próximo a locais em que os ratos eram abundantes. Nos inquéritos epidemiológicos, levados a efeito pelos sanitaristas da Diretoria do Interior do mesmo Departamento (PASCALE e CRUZ, 1945 e PASCALE e PRADO, 1945), ficou constatada a ocorrência dêsses casos com Weil-Felix positivo, tanto em zonas urbanas, como rurais, em diversos municípios do interior paulista. Em vários dêsses municípios não haviam, até então, sido assinalados casos graves ou mortais de doença tifo-exantemática.

Ao considerar o diagnóstico específico dêsses casos benignos de enfermidade tifo-exantemática, afigurava-se, de um lado, — para os que haviam ocorrido em zonas urbanas, tanto da capital como do interior do Estado — plausível a hipótese de tifo murino; de outro lado, a hipótese de febre maculosa não poderia explicar todos os casos verificados em zonas rurais, nem mesmo todos os ocorridos em locais onde haviam sido, anteriormente, observadas infecções pela *Rickettsia rickettsi*. Realmente, em plena zona rural, ratos e pulgas são, por vêzes, tão abundantes nos paióis e depósitos de cereais quanto os carrapatos nos campos e macegas.

A reação de Weil-Felix — dada a precocidade do aparecimento das aglutininas anti-*Proteus* no sangue dos pacientes — era o recurso técnico de maior valor de que dispúnhamos para a descoberta das riquetsioses. É sabido, porém, que pode alcançar títulos mais ou menos elevados em outras infecções.

PASCALE e CRUZ (1945), em seu estudo crítico sôbre os resultados da reação de Weil-Felix, praticada com soros provenientes de diversos municípios do interior do Estado de S. Paulo, dizem o seguinte, quanto à reação: "vem, no entanto, se apresentando positiva em um grande número de casos de febre tifóide e em outros tantos de rickettsiose. Mas o inverso também não é incomum, havendo casos de febre tifóide com hemocultura positiva e casos de rickettsioses com inoculação também positiva em que a reação de Weil Felix se mostra negativa com todos os tipos de proteus examinados".

As observações feitas, no município de S. José do Rio Pardo, foram, por aquêles autores, assim resumidos:

1 — Aparecimento de reações de Weil Felix positivas a título baixo, acompanhando ou não reações de Widal também positivas, com hemocultura negativa; sem sintomatologia clínica para rickettsiose e sem letalidade.

2 — Aumento do título do Weil Felix com persistência do Widal positivo com hemocultura ainda negativa; sem sintomatologia clínica e sem letalidade.

3 — Persistência do título alto do Weil Felix, com Widal e hemoculturas negativas; com sintomatologia clínica suspeita e ainda sem letalidade".

A prova de inoculação em cobaia, que poderia prestar grande auxílio para o esclarecimento desses casos, não é, infelizmente, de fácil realização, na prática, dadas as grandes distâncias a percorrer pelo material a analisar, do interior do Estado para o laboratório na Capital.

Foi só a reação da fixação do complemento que nos veio trazer auxílio de valor para o esclarecimento do problema das riquetsioses benignas em S. Paulo. Em 1943, Avendaño, do Instituto Bacteriológico do Chile, visitava o Butantan, trazendo-nos amostra do cocto-antígeno que Palácios e êle haviam preparado, a partir de pulmão de ratos infectados, por via respiratória, com a *Rickettsia mooseri*. Já pela utilização desse antígeno foi possível afastar o diagnóstico de febre maculosa em um grupo de casos benignos de riquetsiose verificados no Estado de S. Paulo.

Pouco tempo após, um de nós (J. T.) teve a oportunidade, nos Estados Unidos, de se pôr a par dos progressos consideráveis realizados naquele país, durante a guerra, no que se refere às técnicas de pesquisa no campo das riquetsioses. Entre essas técnicas, sobressaía, pelo seu valor diagnóstico, a reação de fixação do complemento, intensamente estudada por BENGTON (1941, 1941a, 1944, 1945), BENGTON e TOPPING (1941, 1942) e PLOTZ e colab. (1942, 1943, 1944).

Utilizando antígenos e soros-padrão, gentilmente cedidos pelo Dr. Topping, do National Institute of Health, de Bethesda, pudemos (RODRIGUES e TRAVASSOS, 1948) verificar, em Butantan, que, pela reação de Bengtson, é possível chegar-se ao diagnóstico dos casos de febre maculosa separando-os, nitidamente, dos do grupo "tifo" (incluindo, nessa expressão, o tifo murino e o epidêmico).

Passamos então, a partir de 1945, a praticar a nova reação com uma série de soros que haviam dado Weil-Felix positivo, em exame realizado no Instituto Adolpho Lutz. Conseguimos estabelecer, desde logo, de maneira definitiva, em firme base sorológica, a presença, em S. Paulo, de uma outra riquetsiose, além da febre maculosa, já reconhecida entre nós, como vimos acima, desde 1929.

Redobramos, a seguir, os nossos esforços para esclarecer, definitivamente, qual a espécie de riquetsia responsável por êsses casos de infecção benigna com Weil-Felix positivo — se não de todos, pelo menos de parte ponderável deles. E foi ainda a reação de Bengtson que veio em nosso auxílio, facilitando-nos, consideravelmente, identificar, pela primeira vez, com segurança, no Brasil, uma amostra ("Vollet") de *Rickettsia mooseri* (TRAVASSOS, RODRIGUES e CARREJO, 1948).

Aplainada parte das dificuldades técnicas que, tanto a nós como a outros experimentadores, haviam, durante longo tempo, tornado impossível o esclarecimento de casos similares ao "Vollet", conseguimos diagnosticar a infecção, em uma série de outros pacientes, não só pela fixação do complemento, como pelo isolamento e pela identificação da riquetsia responsável.

O trabalho realizado para o diagnóstico dêsses casos e o estudo dos seus focos de origem, assim como pesquisas correlatas sobre a epidemiologia das riquetsioses benignas em S. Paulo, constituirão o assunto de notas cuja publicação iniciamos com a presente comunicação, onde abordamos apenas o aspecto sorológico do problema.

## MATERIAL E TÉCNICA

Dentre os resultados de numerosas reações de fixação do complemento praticadas, desde 1945, no nosso laboratório no Instituto Butantan, selecionamos os dados que nos parecem suficientes para comprovar a existência, em caráter endêmico, em S. Paulo, de uma riquetsiose do grupo "tifo", assim como para exemplificar as dificuldades encontradas na interpretação da reação.

Os resultados adiante analisados foram obtidos em reações praticadas com soros de indivíduos residentes tanto na capital como no interior do Es-

tado de S. Paulo. Em boa parte desses casos, a positividade da reação de Weil-Felix, praticada no Instituto Adolpho Lutz, foi o motivo que determinou a remessa dos soros ao nosso laboratório. Várias amostras de sangue foram obtidas também de 4 casos de infecção acidental de laboratório.

Os restantes soros foram de funcionários de um armazém de cereais da Secretaria da Agricultura, localizado no bairro das Perdizes, na capital de S. Paulo, onde se havia verificado o caso humano ("Vollet") de tifo murino acima referido. Foi sangrada a maioria dos empregados, em número de 75, tendo sido colhida apenas uma amostra de soro de cada um. Os resultados obtidos com a totalidade desses soros serão reproduzidos mais abaixo, sem qualquer seleção.

A reação de fixação do complemento foi realizada em 7 casos, com o antígeno preparado, no Chile, por Palácios e Avendaño, a partir de pulmão de ratos infectados com a *Rickettsia mooseri*. Provocada a pneumonia experimental, eram os pulmões retirados e triturados; feita, a seguir, uma suspensão a 10% em soro fisiológico, era a mesma aquecida em banho-maria em ebulição, durante uma hora. Após centrifugação, o sobrenadante era usado como antígeno. A diluição do antígeno era feita, por ocasião do emprêgo, em soro fisiológico ao qual havia sido adicionado, na proporção de 4%, soro inativado de cobaia normal.

Utilizamos-nos de antígenos Bengtson para praticar a reação com os restantes soros analisados neste trabalho. Além das partidas de antígeno murino, epidêmico e de febre maculosa que recebemos do National Institute of Health, preparamos, no Butantan, antígenos com as seguintes amostras de riquetsias: *Rickettsia (Dermacentroxenus) rickettsi*, amostra "Favorita", por nós isolada de *Amblyomma cajennense*, naturalmente infectado e capturado em uma égua, no foco de febre maculosa de Loreto, Araras, Estado de S. Paulo; *Rickettsia mooseri*, amostra "Wilmington", recebida do "N. I. H." e amostra "Vollet", já mencionada.

Em quase todos os casos, foi praticada, em nosso laboratório, a reação de Weil-Felix, com antígeno alcoólico preparado pela técnica de BRIDGES (1944) a partir de culturas lisas do *Proteus* OX19, previamente selecionadas quanto ao seu poder aglutinante.

## RESULTADOS

As nossas primeiras investigações sobre o problema das infecções tifo-exantemáticas benignas foram realizadas com o antígeno de Palácios e Avendaño. Demos preferência a casos ocorridos em plena zona rural do Estado de S. Paulo e que, durante a infecção, haviam apresentado Weil-Felix positivo a título elevado com o *Proteus* OX19 e, às vezes, também com o OX2. Praticamos ainda a reação de fixação do complemento com soros de comunicantes das mesmas zonas, em geral residentes nas mesmas casas em que ocorreram os casos de infecção benigna.

Como testemunhos, foram utilizados o soro de um convalescente de febre maculosa, com diagnóstico confirmado pela prova de inoculação em cobaia, e soros de coelhos e cobaias infectados pela *Rickettsia rickettsi*, assim como soros humanos de tifo murino e tifo epidêmico ocorridos no Chile.

O quadro 1 resume os resultados obtidos.

QUADRO 1

Fixação de complemento com o cocto-antígeno de Palácios e Avendaño.

SOROS	DATA DA SANGRIA (1)	WEIL-FELIX (Antígenos alcoólicos, a não ser indicação em contrário)			Fixação de complemento
		OX 19	OX 2	OX K	
Ro. C. ...	Fim doença .....	2560	1280	80	—
	12 dias após .....	1280	640	40	160
	3 ½ meses após .....	640	80	20	270
R. C. ...	2.ª semana doença .....	80	1280	160	—
	12 dias após .....	640	160	20	160
	3 ½ meses após .....	neg.	20	20	90
S. C. ...	2.ª semana doença .....	20	80	80	—
	12 dias após .....	160	20	80	80
	3 ½ meses após .....	20	20	40	160
A. B. ....	2 meses após doença .....	20	20	neg.	—
	10 dias após .....	40	40	20	810
D. G. ...	Meses após doença .....	20	160	20	270
S. T. ...	Início doença .....	1600 (2)	—	—	—
	Convalescença .....	3200 (2)	—	—	—
	Meses após .....	neg.	—	80	90
J. O. ...	1 mês após doença .....	25600 (2)	—	—	—
	1 ½ mês após .....	neg.	40	160	270
Comunicantes :					
R. C. ....		neg.	neg.	40	negativo
D. C. ....		neg.	neg.	80	negativo
A. B. S. ....		20	neg.	20	negativo
P. S. ....		20	neg.	20	negativo
J. B. S. ....		neg.	20	40	30
N. A. ....		neg.	40	neg.	10
A. S. A. ....		40	40	20	negativo
J. A. ....		neg.	neg.	80	negativo
Testemunhos positivos :					
Sêro humano de tifo epidêmico .....		—	—	—	810
Sêro humano de tifo murino .....		—	—	—	1600
Testemunhos negativos :					
Caso humano de febre maculosa (convalescente) ..		3500 (2)	—	—	negativo
8 cobaias infectadas (febre maculosa) .....		—	—	—	negativo
8 coelhos hiperimunes (febre maculosa) .....		—	—	—	negativo
6 cobaias normais .....		—	—	—	negativo

Legenda: No quadro acima, em lugar das frações habitualmente utilizadas para indicar o título das reações, empregamos os respectivos denominadores. O título da reação de fixação do complemento é dado pela mais elevada diluição de sêro com a qual foi obtido total (4 cruzeiros) ou quase total (3 cruzeiros) impedimento de hemólise.

1) Para a segunda e terceira amostras de sêro, os tempos são contados, em cada caso, a partir da sangria anterior.

2) Weil-Felix feito no Instituto Adolpho Lutz, com antígeno não alcoólico.

Em 56 dos 135 casos em que praticamos a reação de Bengtson, os pacientes apresentavam, por ocasião da colheita do sangue, ou haviam apresentado, meses ou mesmo anos antes, uma infecção benigna com Weil-Felix positivo. Das 79 pessoas restantes, 75 — sangradas em plena saúde — eram empregados do armazém de cereais onde trabalhava o paciente "Vollet" e 4 haviam contraído tifo murino, acidentalmente, no laboratório. Dêsses 4 casos, 2 evoluíram de maneira acentuadamente grave.

Em alguns dos 56 casos de infecção benigna, a mesma pessoa foi sangrada duas ou mais vezes, tendo, ao todo, sido examinadas 65 amostras de sêro. Dos 56 pacientes, 26 residiam em zona urbana e 22 em zona rural, ignorando-se o domicílio dos restantes.

**QUADRO 2**  
**REAÇÃO DE BENGTON**

GRUPO A

SÓROS	Tempo entre sangria e início da doença	Anti-geno Murino	Anti-geno Epidêmico	Anti-geno de febre maculosa	Rural ou cidade	
723.....	21 meses	neg.	neg.	20	R	Inoc. cob.: positiva para febre maculosa; W.F.: Neg.; Hem.: Neg.
1044.....	11 meses	neg.	neg.	40	R	Inoc. cob.: Neg.; W.F. (L.): 800; Hem.: Neg.; Wid.: 100

GRUPO B

586.....	3 meses	40		neg.	R	Inoc. cob.: Neg.; W.F. (L.): 3200; Hem.: Neg.; Vid.: Neg.
587.....	1 ½ meses	160		neg.	R	W.F. (L.): 25.600
622.....	16 meses	40	80	neg.	?	W.F. (L.): 3200; Wid.: 200; Hem.: Neg.
691.....	17 dias	neg.	10	neg.	R	W.F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
692.....	13 dias	20	320	neg.	R	W.F.: 160
693.....	11 dias	40	160	neg.	R	Inoc. cob.: Neg.; W.F.: 320
701.....	14 ½ meses	neg.	10	neg.	R	W.F. (L.): 1600; Wid.: Neg.
702.....	22 dias	neg.	320	neg.	R	W.F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Vid.: 200
703.....	12 dias	20	80	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
718 1.ª amostra ...	18 dias	40	320	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: 400
718 2.ª amostra ...	43 dias	20	10	neg.	C	W. F.: Neg.
719 1.ª amostra ...	24 dias	neg.	320	neg.	R	W. F. (L.): 1600; Wid.: 100
719 2.ª amostra ...	3 ½ meses	neg.	10	neg.	R	W. F.: Neg.
720 1.ª amostra ...	12 dias	20	10	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
720 2.ª amostra ...	100 dias	10	10	neg.	C	W. F.: Neg.
722 1.ª amostra*...	5 meses	20	10	neg.	R	Inoc. cob.: Neg.; W. F. (L.): 1600; Wid.: 400
725 1.ª amostra ...	180 dias	80	40	neg.	R	W. F. (L.): 800; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
725 2.ª amostra ...	180 dias	20	20	neg.	R	
727 1.ª amostra ...	4 meses	neg.	160	5	R	Inoc. cob.: Neg.; W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
727 2.ª amostra ...	6 meses	neg.	40	neg.	R	
731.....	20 dias	neg.	10	neg.	R	W. F. (L.): 3200; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.



QUADRO 2 (continuação)

SÓROS	Tempo entre sangria e início da doença	Antígeno Murino	Antígeno Epidêmico	Antígeno de febre maculosa	Rural ou cidade	
763.....	20 dias	neg.	320	neg.	C	Inoc. cob.: Neg.; W.F. (L.): 12800
767.....	1 mês	10	40	neg.	R	W. F. (L.): 3200; Hem.: Neg.
871.....	1 ½ meses	5	40	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Wid.: Neg.
881.....	8 anos	5	5	neg.	C	Inoc. cob.: Neg.; W. F. (L.): 6400
2401.....	1 ½ meses	20**	10**	neg.	C	W. F. (L.): 400; Hem.: Neg.; Wid.: 200
2402.....	14 dias	20**	80**	neg.	C	W. F. (L.): 12800; Hem.: Neg.; Wid.: 100
2403.....	7 dias	40**	80**	neg.	C	W. F. (L.): 6400; Hem.: Neg.; Wid.: 100
2426.....	3 meses	40	10	neg.	C	W. F. (L.): Neg.
2621.....	1 ½ meses	320	20	neg.	R	W. F. (L.): 6400; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
2711.....	?	40	10		?	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
2735.....	?	40	10		?	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
2763.....	?	80	20**		?	W. F.: 2560

GRUPO C

721.....	8 ½ meses	10	40	20	R	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
----------	-----------	----	----	----	---	--

GRUPO D

722 2.ª amostra*...	7 meses	neg.	neg.	neg.	R	W. F.: Neg.
1804.....	20 dias	neg.	neg.	neg.	C	W. F.: 1280; Wid.: 100
1805.....	doença	neg.	neg.	neg.	R	W. F.: 640
1852.....	14 dias	neg.	neg.	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Hem.: Neg.; Wid.: Neg.
2797.....	?	neg.	neg.		?	W. F.: 2560; Hem.: Neg.; Wid.: 400

Legenda : No quadro acima, em lugar das frações habitualmente utilizadas para indicar as diluições de soro, empregamos os respectivos denominadores. Salvo indicação em contrário, o título da reação aí consignado foi dado pela mais elevada diluição de soro com a qual foi obtido total (4 cruzeiros) ou quase total (3 cruzeiros) impedimento de hemólise.

Nesse quadro, foram ainda incluídas, como positivas, reações nas quais foi obtido impedimento parcial (2 cruzeiros) com mais de uma diluição (e às vezes até com diluição bastante elevada) de soro, sem que, no entanto, em tubo algum o impedimento tenha alcançado 3 cruzeiros.

Inoc. cob. = Prova de inoculação em cobaia para isolamento de riquetsias.

W. F. = Reação de Weil-Felix, praticada no "Instituto Butantan", com antígenos alcoólicos.

W. F. (L.) = Reação de Weil-Felix, praticada no "Instituto Adolpho Lutz", com antígenos vivos.

Hem. = Hemocultura (em meios especiais para germes do grupo tifo-paratífico).

Wid. = Reação de Widal.

\* Foram examinadas 2 amostras do soro n.º 722: uma está incluída no grupo b e a outra no grupo d.

\*\* Fixação parcial (2 cruzeiros) desde a diluição a 1/10 até a indicada no quadro.

De acôrdo com os resultados obtidos no quadro 2, podemos dividir essas 65 amostras de sôro em 4 grupos :

a) positivos, com o antígeno de febre maculosa e negativos, com os antígenos do grupo "tifo" (murino e epidêmico) : 2 (soros 723 e 1.044).

b) positivos, com um dos dois ou com ambos os antígenos do grupo "tifo" e negativos com o antígeno de febre maculosa (ou então positivos com êste último, a título consideravelmente inferior ao obtido com um dos antígenos do grupo "tifo"): a grande maioria das amostras de soros incluídos neste trabalho, em número de 57.

c) positivos, com os 3 antígenos : 1 (sôro 721).

d) negativos com os antígenos do grupo "tifo" ou com todos os 3 antígenos utilizados: 5 (segunda amostra do sôro 722, soros 1.804, 1.805, 1.852 e 2.797). Com êste último sôro não foi empregado o antígeno de febre maculosa.

Foi feita uma primeira série de reações, com todos os 75 soros colhidos no foco "Vollet", diluídos a 1/5, tendo sido utilizado um dos antígenos do grupo "tifo" (o antígeno epidêmico). As reações positivas ou duvidosas, em número total de 5, foram repetidas, usando-se diluições progressivas de sôro a partir de 1/10, com ambos os antígenos do grupo "tifo" : o murino e o epidêmico. A reação foi negativa a 1/10, em presença dos 2 antígenos, com 72 dos 75 soros examinados. Os resultados obtidos com os 3 soros restantes estão consignados no quadro 3.

### QUADRO 3

Reação de Bengtson com o sôro de 75 funcionários do armazém da rua Guaiacurús (São Paulo), onde trabalhava o paciente (Vollet) do qual foi isolada a 1.ª amostra de *Rickettsia mooseri*.

		Denominador da Diluição do sôro :				
		10	20	40	80	160
Sôro 1653 Antígeno	Murino .....	4	3	0	0	0
	Epidêmico .....	2	0	0	0	0
	Testem. ....	0	0	0	0	0
Sôro 1700 Antígeno	Murino .....	4	4	3	±	0
	Epidêmico .....	4	2	0	0	0
	Testem. ....	0	0	0	0	0
Sôro 1709 Antígeno	Murino .....	4	4	2	±	0
	Epidêmico .....	3	1	±	0	0
	Testem. ....	0	0	0	0	0

Os restantes soros, em número de 72, foram negativos na diluição de 1/10, com ambos os antígenos.

Legenda : Os resultados acima estão expressos, como habitualmente, em número de cruces, indicando graus de impedimento de hemólise.

Praticado o Weil-Felix com os 75 soros, encontrou-se apenas um que, na diluição de 1/100, aglutinava o *Proteus* OX19. Trata-se do caso 1709, um dos 3 em que a reação de Bengtson foi positiva.

Os resultados das reações praticadas com várias amostras de sangue de cada um dos 4 casos de infecção acidental de laboratório constam do quadro 4.

QUADRO 4

REAÇÃO DE BENGTON

Casos em que foram examinadas mais de uma amostra de sangue do mesmo paciente.

SÓROS	Tempo entre sangria e início da doença	Anti-geno Murino	Anti-geno Epidémico	Anti-geno de febre maculosa	Rural ou cidade		
718 1.ª amostra ...	18 dias	40	320	Neg.	C	W. F. (L.): 1600; Wid.: 400; Hem.: Neg.	
718 2.ª amostra ...	60 dias	20	10	Neg.	C		
719 1.ª amostra ...	24 dias	40	320	neg.	R	W. F. (L.): 1600; Wid.: 100; Hem.: Neg.	
719 2.ª amostra ...	3 ½ meses	20	10	neg.	R		
720 1.ª amostra ...	12 dias	20	160	neg.	C	W. F. (L.): 1600; Wid.: Neg.; Hem.: Neg.	
720 2.ª amostra ...	100 dias	10	10	neg.	C		
722 1.ª amostra ...	5 meses	20	10	neg.	R	W. F. (L.): 1600; Wid.: Neg.; Hem.: Neg.	
722 2.ª amostra ...	7 meses	neg.	neg.	neg.	R		
725 1.ª amostra ...	130 dias	80	40	neg.	R	W. F. (L.): 800; Wid.: 400; Hem.: Neg.	
725 2.ª amostra ...	190 dias	20	20	neg.	R		
727 1.ª amostra ...	4 meses	neg.	160	5	R	W. F. (L.): 1600; Wid.: Neg.; Hem.: Neg.	
727 2.ª amostra ...	6 meses	neg.	40	neg.	R		
1081	1.ª amostra..	14 dias	10	320	10		
	2.ª amostra..	83 dias	160	40	neg.	C	
	3.ª amostra..	139 dias	40	10	neg.		
2281	1.ª amostra..	10 dias	20	40	neg.	C	
	2.ª amostra..	17 dias	80	40	neg.	W. F.: 640	
3000*	1.ª amostra..		10	10	neg.	W.F. { Durante a doença: 320 1 mês após: 160	
	2.ª amostra..		10	80	20		
	3.ª amostra..		160	320			C
	4.ª amostra..	33 meses	40	20			
3001*	1.ª amostra..		neg.	neg.		W.F. { Durante a doença { 1.º Neg. 2.º Neg. 3.º 80 1 mês após: 40	
	2.ª amostra..		neg.	neg.			
	3.ª amostra..		neg.	neg.	neg.		C
	4.ª amostra..		1280	640	neg.		
	5.ª amostra..		320(1)	320(1)			

QUADRO 4 (Continuação)

SÓROS	Tempo entre sangria e início da doença	Antígeno Murino	Antígeno Epidêmico	Antígeno de febre maculosa	Rural ou cidade		
3002*	1.ª amostra..	neg.	neg.	neg.		W.F. { durante a doença: 80	
	2.ª amostra..	80	40		C		I mês após: 40
	3.ª amostra..	80	40		C		
3003*	1.ª amostra..	neg.	neg.			W.F. { Durante a { 1.ª 40 doença { 2.ª 20	
	2.ª amostra..	neg.	neg.				
	3.ª amostra..	neg.	neg.		C		
	4.ª amostra..	neg.	neg.	neg.			
	5.ª amostra..	160	40				I mês após: Neg.

\* De todos os casos (3000 a 3003) de infecção acidental foi isolada a *Rickettsia mooseri*.

Legenda: Em lugar das frações habitualmente utilizadas para indicar o título das reações, empregamos os respectivos denominadores. O título foi dado pela mais elevada diluição de soro com a qual foi obtido total (4 cruzes) ou quase total (3 cruzes) impedimento de hemólise.

### COMENTÁRIO

O intuito de relatar, de maneira tão completa quanto possível, as nossas pesquisas sobre o problema das riquetsioses do grupo "tifo" em S. Paulo levou-nos a comunicar, neste trabalho, os resultados das reações de fixação do complemento com o cocto-antígeno de Palácios e Avendaño, apesar do caráter preliminar das investigações realizadas.

Na ocasião (janeiro de 1944), conseguimos obter apenas um número reduzido de soros de casos de infecção benigna suspeita de riquetsiose e, por outro lado, não pudemos dispor de antígenos outros — de tifo epidêmico e de febre maculosa — necessários para o completo controle da reação.

A infecção, nesses casos, caracterizava-se por febre, de 2 a 3 semanas de duração, com acentuada cefaléia inicial, dores musculares e exantema. Até a data da colheita dos soros, não se conhecia nenhum caso mortal da enfermidade. Segundo informações colhidas "in loco", nos anos anteriores, haviam sido verificados casos de doença similar nos arredores. Carrapatos, assim como ratos e pulgas, eram encontrados, com freqüência, nas proximidades do domicílio dos pacientes.

O caráter rural da infecção e os títulos elevados do Weil-Felix por vezes observados com o *Proteus* OX2 pareciam falar a favor da hipótese de febre maculosa benigna. Até a data, no entanto, não haviam sido observados casos graves, típicos, de febre maculosa, nas zonas de onde provinham os soros.

O exame dos resultados consignados no quadro I levou-nos a excluir, para os casos de infecção benigna clinicamente suspeita de doença tifo-exantemática (soros Ro. C., R. C., S. C., A. B., D. G., S. F. e J. O.), o diagnóstico de febre maculosa e a considerar, como provável, a hipótese de riquetsiose do grupo "tifo". Vê-se, realmente, que os soros desses casos fixaram

o complemento em presença do cocto-antígeno de Palácios e Avendaño, alcançando altos títulos, tal como os soros chilenos, enquanto que os soros típicos de febre maculosa foram negativos.

Dos soros de comunicantes examinados, dois fixaram o complemento. Num desses casos, o título da reação atingiu 1/30, tendo o paciente declarado haver tido "tifo" 8 meses antes da colheita do sangue. Da história pregressa do outro — no qual a reação foi positiva a 1/10 — não constava referência a doença febril alguma. Por outro lado, entre os comunicantes para os quais foi negativa a reação de fixação do complemento, um deles (A. S. G.) havia tido, algum tempo antes da sangria, doença febril prolongada, durante a qual foram, por duas vezes, praticados exames de laboratório. O Weil-Felix foi positivo a 1/1.600, com ambas as amostras de sôro, enquanto que a reação de Widal passou de negativa, com a primeira, a positiva a 1/400, com a segunda. Parece, assim, mais provável tratar-se de um caso de febre tifóide, pois, como é sabido, a elevação, durante a doença, do título, quer do Widal quer do Weil-Felix, possui, em regra, maior valor diagnóstico do que um resultado positivo único, por mais alto que seja o título. Haja vista o ocorrido com os dois casos citados por PASCALE e CRUZ (1945), nos quais, apesar de não haver dúvida sobre o diagnóstico de febre tifóide, confirmado por hemocultura positiva, o Weil-Felix atingiu o título de 1/800.

Na ocasião, a falta de antígeno de febre maculosa necessário para o completo controle da reação impediu que os resultados acima, conquanto significativos, fossem considerados como prova definitiva da existência entre nós de uma riquetsiose do grupo "tifo".

Em trabalho anterior, constatamos a especificidade da reação de Bengtson no que diz respeito ao diagnóstico da "Rocky Mountain spotted fever" e às riquetsioses do grupo "tifo". Vê-se, assim, pelo exame do quadro 2, que esse recurso técnico, de emprêgo recente mas já generalizado no estudo das doenças tifo-exantemáticas, possibilitou firmar o diagnóstico de febre maculosa para 2, dentre os 58 casos de infecção benigna examinados neste trabalho. Ambos foram verificados em zona rural, havendo, tanto um como o outro, apresentado reação de Weil-Felix positiva. O diagnóstico sorológico foi confirmado, em um dos pacientes, pela prova de inoculação em cobaia. Residiam ambos em área onde haviam sido, anteriormente, constatados casos de febre maculosa.

De maior significação se revestem, no entanto, os resultados obtidos com os soros do grupo "b". Com efeito, ainda que não permitisse o diagnóstico específico da riquetsia em causa, a reação de Bengtson veio trazer, pela primeira vez, em um número ponderável de casos (51), a certeza de existir, entre nós, em forma endêmica, além da febre maculosa, uma outra doença tifo-exantemática.

Já de há muito, como vimos na introdução deste trabalho, vinha sendo suspeitado que o *Dermacentroxenus rickettsi* não poderia ser incriminado como o agente etiológico em todos os casos de riquetsiose observados no Estado de S. Paulo, desde 1929. Os argumentos apresentados para justificar essa suspeita tinham base, quer na clínica, quer na epidemiologia dos casos observados, quer ainda em trabalhos experimentais realizados com o sangue dos doentes. Faltava, no entanto, um recurso técnico de valor diag-

nóstico mais seguro, para se poder concluir, com segurança, que ocorresse mais de uma riquetsiose entre nós. Se as razões de ordem epidemiológica impressionavam, na clínica tornava-se sobremaneira difícil, senão impossível, distinguir, dentre os chamados casos de "tifo exantemático benigno", os que seriam casos benignos de uma doença geralmente (?) grave e de evolução mortal, a febre maculosa.

Prosseguindo no exame dos casos acima discriminados, vemos que um único sôro (721) reagiu com os 3 antígenos a títulos que não permitem firmar o diagnóstico específico. O Weil-Felix, praticado com essa amostra de sôro, havia sido positivo a 1/1.600.

Finalmente, dos 58 casos aqui examinados, 4 foram negativos com todos os antígenos. A segunda amostra de sôro do caso 722, também negativa com os 3 antígenos, foi obtida de doente residente em zona rural, o qual, como se vê pelo exame do quadro 2, apresentara fixação do complemento positiva com material retirado 2 meses antes. Uma primeira reação de Weil-Felix havia sido positiva a 1/800 e uma segunda, com 3 dias de intervalo, a 1/1.600. A prova de inoculação do seu sangue em cobaia havia sido negativa. Dado o baixo título da primeira reação, explica-se, facilmente, terem os anticorpos fixadores desaparecido do sangue do paciente no espaço de 3 meses.

No paciente 1.804, temos, possivelmente, um exemplo de tardia reação à infecção pela produção de anticorpos fixadores. Considerada negativa a reação para efeito de registro, não deixou, contudo, de haver muito ligeira inibição de hemólise nos três primeiros tubos correspondentes às diluições de 1/10, 1/20, e 1/40 do sôro.

Os restantes casos negativos (1.805, 1.852 e 2.797) com os 3 antígenos haviam, como quase todos os casos aqui examinados, apresentado uma reação de Weil-Felix positiva. Os títulos obtidos foram, respectivamente, 1/640, 1/1.600 e 1/2.560. A prova de inoculação do sangue do paciente em cobaia foi praticada apenas no caso 1.852, tendo sido negativa.

Sabendo-se que a reação de Weil-Felix pode ser positiva em outras infecções, há a possibilidade, para êsses 3 casos, de um outro diagnóstico que não o de doença tifo-exantemática. Outra hipótese, porém, pelo menos para os soros 1.805 e 1.852, se não também para o sôro 2.797 (pois que se ignora o período em que êste último foi obtido) é o diagnóstico de riquetsiose na qual teria sido tardia ou nula a produção de anticorpos fixadores específicos.

O valor da reação de Bengtson para o diagnóstico retrospectivo das riquetsioses do grupo "tifo" ficou bem evidenciado pelos resultados obtidos com os soros dos funcionários do armazém de cereais da Secretaria da Agricultura, situado no bairro das Perdizes, na capital de S. Paulo.

Em trabalho anterior, já examinamos o considerável auxílio que a fixação do complemento nos trouxe para a descoberta desse foco de tifo murino, permitindo não só firmar o diagnóstico de riquetsiose do grupo "tifo" para o caso "Vollet", como ainda orientar e controlar as pesquisas que nos levaram a identificar, de maneira segura, a *Rickettsia mooseri*. Além da amostra obtida do caso humano, foram isoladas, de ratos e pulgas que infestavam o armazém, várias outras amostras, as quais serão estudadas em trabalho ulterior desta série.

O exame do sôro dos companheiros de trabalho do paciente "Vollet" completa o estudo do foco. Mostram os resultados que a reação de Bengtson permite a descoberta de focos, ou de casos isolados de tifo murino, mesmo após a cura da infecção. Como se vê pelo quadro 3, a reação foi positiva com o sôro de 3 das 75 pessoas sangradas. Dada a benignidade usual da doença, nenhum dos 3 conseguiu precisar quanto tempo havia decorrido entre o início da infecção e a colheita de sangue.

Os resultados obtidos em numerosos casos, dentre os 51 que apresentavam uma história de infecção benigna com Weil-Felix positivo, permitem, no entanto, afirmar que o diagnóstico retrospectivo de riquetsiose do grupo "tifo", mediante a reação de Bengtson, poderá ser feito meses e mesmo anos após a infecção (reação positiva a 1/40 cêrca de 3 anos após a doença nos casos 3.000 e 3.001, de infecção acidental de laboratório).

Visto o auxílio que a reação de Bengtson nos trouxe no que diz respeito ao diagnóstico de febre maculosa, de um lado, e de riquetsiose do grupo "tifo" de outro, abordaremos agora a questão do diagnóstico da espécie da riquetsia responsável pelos casos dêste último grupo.

Só pela purificação dos antígenos pela técnica de Plotz é que se conseguiria, em boa parte dos casos do grupo "tifo", estabelecer o diagnóstico de espécie da riquetsia em causa. Com os antígenos Bengtson, dada a intensa reação cruzada observada, habitualmente, entre o tifo murino e o epidêmico, não é possível, na maioria dos casos, obter o diagnóstico diferencial entre essas duas infecções.

Ainda mais, como vimos em trabalho anterior e veremos, novamente, linhas adiante, há casos em que o sôro do paciente de tifo murino reage inicialmente com o antígeno heterólogo (o epidêmico) a título mais alto do que com o homólogo. Torna-se evidente a impossibilidade de se chegar a um diagnóstico específico com os antígenos de Bengtson, pelo menos quando se examina só uma amostra de sôro.

Eliminando, por lavagens e centrifugações sucessivas, grande parte do componente antigênico solúvel, comum à *Rickettsia mooseri*, Plotz consegue obter antígenos que seriam dotados de maior especificidade.

Tentaremos, no entanto, por meio de uma análise mais detalhada dos resultados obtidos com a reação de Bengtson, chegar a um diagnóstico específico de probabilidade, pelo menos nos casos em que foram praticadas mais de uma sangria.

Em 12 casos, dos quais 4 de infecção acidental de laboratório, foram examinadas 2 ou mais amostras de sôro do mesmo paciente. No quadro 4, reproduzimos, com detalhes, os resultados dêsses exames.

Dêsses 12 casos, o de n.º 1.081 é especialmente ilustrativo da intensa reação cruzada observada entre o tifo murino e o epidêmico. Já tendo pormenorizadamente discutido, em trabalho anterior, as particularidades sorológicas dêsse caso, limitar-nos-emos a chamar a atenção para o fato de que só tardiamente, após a cura da doença, o título da fixação com o antígeno homólogo (murino) se elevou, acentuadamente, ultrapassando o da fixação heteróloga, que havia então declinado.

Já PLOTZ e colab. (1948) e SCOVILLE e colab. (1948) assinalaram que o anticorpo específico contra cada uma das riquetsias, murina e epidêmica,

é de aparecimento mais tardio no sangue do que o anticorpo correspondente ao antígeno comum a ambas. Segue-se, daí, o auxílio que o exame dos resultados das reações praticadas em série pode trazer para o esclarecimento da etiologia específica de alguns casos de riquetsiose benigna. A se aceitar, como de valor diagnóstico, a elevação progressiva do título da fixação com o antígeno murino, vemos que, no caso "Vollet", poderíamos chegar, só pela reação de Bengtson, a reconhecer, conquanto tardia, retrospectivamente, a espécie da infecção em causa. Nesse caso, aliás, como dissemos, foi possível chegar a um diagnóstico de certeza pelo isolamento da riquetsia responsável.

O caso 2.281 é outro exemplo em que a alteração do nível do anticorpo murino se processou nitidamente no mesmo sentido que no caso "Vollet". Parece razoável aceitar-se, também para esse caso, com base apenas na reação de Bengtson, o diagnóstico provável de tifo murino. Infelizmente, não pudemos dispor de uma terceira amostra de soro desse paciente, para constatar se a modificação havida, no intervalo de 7 dias, durante a doença, continuou a se realizar no mesmo sentido, durante a convalescença e após a cura.

O caso 718 mostra, igualmente, ter-se invertido, na amostra de soro obtida 60 dias após o início da infecção, a predominância alcançada, na amostra colhida aos 18 dias de doença, pelo nível do anticorpo epidêmico sobre o do anticorpo murino. Nesta segunda amostra, no entanto, já por demais tardia, ambos os títulos haviam caído consideravelmente, não podendo ser constatada, pela falta de soro de períodos intermediários, se houve ou não, em certa fase da doença ou da convalescença, uma elevação gradual do título da fixação com o anticorpo murino. O comportamento sorológico desse caso, tal como revela a análise das 2 amostras de soro obtidas, poderia enquadrá-lo tanto entre os casos de tifo murino, como entre os de tifo epidêmico.

Nos casos restantes de infecção natural, 719, 720, 722, 725 e 727, as sangrias foram feitas em períodos tardios demais para permitir sequer uma conjectura sobre a sua etiologia específica. Chama a atenção, no entanto, num deles, 727, o fato da persistência dos anticorpos epidêmicos em níveis apreciáveis nas amostras de soro, colhidas 4 a 6 meses após o início da infecção, quando não foi verificada a presença de anticorpos murinos, senão em nível insignificante.

De cada um dos 4 casos de infecção acidental de laboratório, foi isolada uma amostra de *Rickettsia mooseri*, perfeitamente identificada pelo seu comportamento experimental e por provas de imunidade.

Entre esses casos, há pelo menos um, o de n.º 3.000, com o qual obtivemos resultados que não se explicam pelos conhecimentos atuais sobre a reação de fixação do complemento. Constata-se, com efeito, nesse caso, a predominância mantida, durante perto de 2 meses após a infecção, pelo nível do anticorpo epidêmico sobre o do murino.

Nem mesmo com o emprego de antígenos purificados pôde ser feito o diagnóstico específico da riquetsiose em causa pela fixação do complemento. A reação praticada com os antígenos de Plotz no Laboratório de Virus e Riquetsias da Army Medical School, em Washington, alcançou título mais alto para o tifo epidêmico do que para o murino. O título da aglutinação



realizada no mesmo laboratório foi, no entanto, significativamente mais alto com a riquetsia murina do que com a epidêmica.

É sabido que a vacinação prévia com um dos antígenos, murino ou epidêmico, vem trazer nova dificuldade à interpretação, pela reação de fixação do complemento, dos casos de riquetsiose do grupo *typhus*.

No caso n.º 3.000, no entanto, havia apenas história prévia de vacinação com uma dose única de vacina Spencer-Parker contra a "Rocky Mountain spotted fever". Encontrar-se-ia, aí, a explicação do comportamento sorológico anômalo, ou estaria este em relação com a gravidade inteiramente excepcional da infecção? Caso também muito grave foi o de n.º 3.001, no qual se verificou, igualmente, a impossibilidade de um diagnóstico específico pela reação de Bengtson. Também desse paciente foi isolada e, a seguir, identificada a *Rickettsia mooseri*. Os 2 outros casos de tifo murino acidental foram bem menos graves que os anteriormente citados. Nêles se constata a predominância dos títulos do anticorpo homólogo nas várias amostras de sangue. Ora, êstes 3 últimos casos eram de indivíduos que, há anos, vinham sendo, repetidamente, vacinados contra a febre maculosa. Não parece provável, pois, que o comportamento sorológico anômalo do caso n.º 3.000 seja conseqüência da inoculação da vacina Spencer-Parker.

#### RESUMO

Em comunicação anterior, os autores trataram de um caso humano de tifo exantemático murino observado na capital de S. Paulo. O diagnóstico do caso foi feito pelo isolamento e pela identificação de uma amostra de *Rickettsia mooseri*. Já, anteriormente, haviam sido observados, no Estado de S. Paulo, casos benignos de doença tifo-exantemática semelhantes ao estudado pelos autores. Durante anos, porém, não se conseguiu estabelecer o diagnóstico específico desses casos, os quais, com os casos graves de riquetsiose, eram englobados sob a designação de "tifo exantemático de S. Paulo". Mais tarde, receberam muitos desses casos benignos o diagnóstico de tifo murino, feito apenas com base em dados clínicos e epidemiológicos.

No presente trabalho, os autores prosseguem no relato das pesquisas feitas para esclarecer a etiologia de tais casos. A reação de fixação do complemento foi praticada com um certo número de soros com Weil-Felix positivo. Uma grande parte das amostras de sangue foi obtida de indivíduos que sofriam, ou haviam sofrido, uma infecção benigna e que residiam em zonas quer rurais quer urbanas do Estado de S. Paulo.

Na parte preliminar do trabalho, realizada em janeiro de 1944, foi utilizado um antígeno, preparado no Instituto Bacteriológico do Chile, por Palácios e Avendaño, com a *Rickettsia mooseri*. A partir de novembro de 1945, foram empregados antígenos Bengtson, preparados com a riquetsia da febre maculosa das Montanhas Rochosas e com as do tifo murino e tifo epidêmico.

Em 1944, foi praticada a prova, em presença do cocto-antígeno, com o sôro de 7 casos verificados em zona rural do Estado de S. Paulo. Naquela ocasião, a falta de antígeno para o diagnóstico da febre maculosa tornou impossível o contrôle perfeito da reação. Não se pôde, assim, concluir, com

certeza, pela existência em S. Paulo de uma doença exantemática do grupo "tifo" (tifo murino e tifo epidêmico). Contudo, os resultados falavam fortemente a favor da hipótese de ocorrer, em S. Paulo, mais de um tipo de infecção tifo-exantemática.

Cêrca de 2 anos mais tarde, as reações realizadas com antígenos Bengtson vieram trazer a prova definitiva de que uma parte dos assim chamados casos de "tifo exantemático de S. Paulo" ou de "febre maculosa" eram realmente casos de uma infecção exantemática do grupo "tifo".

De todos os casos clínicos, nos quais foi praticada a reação com os antígenos Bengtson, 58 foram selecionados para serem discutidos nesta comunicação. Em dois dêles, conseguiu-se firmar, pela fixação de complemento, o diagnóstico de febre maculosa das Montanhas Rochosas. Em 51 casos, a reação foi positiva, quer com o antígeno murino, quer com o epidêmico. Em muitos dêesses 51 casos, não houve uma diferença significativa entre os títulos observados com o antígeno murino e com o epidêmico; o título foi, ora mais alto com o murino, ora com o epidêmico.

Devido à intensa reação de fixação cruzada, verificada entre o tifo murino e o epidêmico, só foi possível chegar-se, pela primeira vez, a um diagnóstico seguro de tifo murino pela identificação de uma amostra de *Rickettsia mooseri*, isolada do caso humano ("Vollet") acima referido. Em uma nota a ser publicada, relataremos o isolamento da *Rickettsia mooseri* de mais 10 casos humanos de tifo murino, alguns dêles provenientes de zona rural.

Foi praticada ainda a reação de fixação do complemento com o sôro de 75 empregados de um armazém de cereais, onde trabalhava o paciente "Vollet", tendo sido utilizados os antígenos Bengtson. Em 3 dêesses casos, a reação foi positiva com o antígeno murino ou o epidêmico. Nenhuma dessas 3 pessoas havia apresentado sintomas de infecção nos 30 dias anteriores à sangria.

A reação foi também aplicada ao diagnóstico de 4 casos de infecção acidental de laboratório. Verificaram-se todos os 4 entre o pessoal técnico do Laboratório de Riquétsias do Instituto Butantan, onde o trabalho relatado nesta comunicação foi realizado. A reação foi positiva nos 4 casos com os antígenos Bengtson, murino e epidêmico. Posteriormente, foi isolada, de cada caso, uma amostra de *Rickettsia mooseri*.

Em um dêesses casos, nem pelo emprêgo dos antígenos de Plotz foi possível chegar-se ao diagnóstico diferencial entre tifo murino e epidêmico. O título da reação realizada na Army Medical School, em Washington, com uma amostra de sangue colhida 4 meses após a infecção, foi mais alto com o antígeno murino do que com o epidêmico. Mas o título de aglutinação de riquétsias foi significativamente mais alto com a *Rickettsia mooseri* do que com a *Rickettsia prowazeki*.

#### SUMMARY

In a previous paper, the authors reported a human case of murine typhus that occurred in the city of S. Paulo, Brazil. The diagnosis of the case was made by the isolation and identification of a strain of *Rickettsia mooseri*. For a time, similar mild cases of infection observed in the State of S. Paulo

had not been distinguished from cases of the so-called S. Paulo typhus. They were later diagnosed as cases of murine typhus although only on clinical grounds.

In this paper, further work done to clear up the etiology of such cases is reported. Complement fixation tests with rickettsial antigens were carried out with a number of positive Weil-Felix sera. Many of the blood samples were taken during or after the course of a mild infection from people living in either urban or rural areas of the State of S. Paulo.

At first a cocto-antigen was used, which was prepared from a strain of *Rickettsia mooseri* isolated in Santiago, Chile. Later, Bengtson antigens were employed, which were prepared either with Rocky Mountain spotted fever, murine or epidemic typhus rickettsiae.

In 1944, sera from 7 cases reported in a rural area of S. Paulo State were tested with the cocto-antigen. At that time, the lack of a Rocky Mountain spotted fever antigen made it impossible to prove conclusively the occurrence of cases of an exanthematic disease of the typhus group in the State of S. Paulo. Two years later, complement fixation tests performed with Bengtson antigens provided definite evidence that part of the so-called "S. Paulo typhus" actually were cases of an infection of the typhus group.

Of the clinical cases tested with Bengtson antigens for complement fixing antibodies, 58 were selected for discussion in this paper. They were all mild cases with a positive Weil-Felix reaction. In two of them, a serologic diagnosis of R. M. s. f. was established. A positive test with either the murine or the epidemic antigen was obtained in 51 cases. In many of them there was not a significant difference between the murine and the epidemic antibody titers. Sometimes the titer was higher with the murine, at others with the epidemic antigen.

From one of those 51 cases, a strain of *Rickettsia mooseri* was isolated and identified. Sera of 75 employees of the grain store where this patient worked were tested with Bengtson antigens. A positive test with the murine antigen was obtained in three of these people. None of them had shown any sign of infection for a period of at least a month previous to the bleeding for the test.

The test was also used for the diagnosis of 4 cases of laboratory infection. All 4 were accidentally infected in the Rickettsial Diseases Laboratory of the Instituto Butantan, where the work reported in this paper was done. Complement fixing antibodies against the rickettsiae of the typhus group were found in the serum of all cases when tested with Bengtson antigens. Later, a strain of *Rickettsia mooseri* was isolated from each case and identified.

In one of these accidental cases, not even using Plotz antigens could a specific serologic diagnosis be made. A blood sample taken 4 months after the infection from this case was tested for complement fixing antibodies at the Army Medical Center, Washington, D. C., U. S. A. The titer was slightly higher with the epidemic than with the endemic antigen. However, the agglutination titer with the murine was significantly higher than with the epidemic rickettsiae.

## BIBLIOGRAFIA

- BENGTSON, I. A. — 1941 — Complement fixation in "Q" fever. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **46** : 665-668.
- BENGTSON, I. A. — 1941a — Complement fixation in endemic typhus fever. *Pub. Health Rep.* **56** : 649-653.
- BENGTSON, I. A. — 1944 — Complement fixation in the rickettsial diseases. Technique of the test. *Pub. Health Rep.* **59** : 402-405.
- BENGTSON, I. A. — 1945 — Applications of the complement-fixation test in the study of rickettsial diseases. *Am. J. Pub. Health* **35** : 701-707.
- BENGTSON, I. A. e N. H. TOPPING — 1941 — The specificity of the complement fixation test in endemic typhus fever using a rickettsial antigen. *Pub. Health Rep.* **56** : 1723-1727.
- BENGTSON, I. A. e N. H. TOPPING — 1942 — Complement-fixation in rickettsial diseases. *Am. J. Pub. Health* **32**:48-58.
- BRIDGES, R. F. — 1944 — Note on the preparation of suspensions for the Weil-Felix test. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **37** : 343-344.
- CINTRA, P. ULHÔA e J. TOLEDO PISA — 1920 — Sobre um caso de typho exanthematico em São Paulo. *Brasil-Medico* **34** : 714-718.
- DAVIS, G. E. e R. R. PARKER — 1933 — Additional studies on the relationship of the viruses of Rocky Mountain spotted fever and São Paulo exanthematic typhus. *Pub. Health Rep.* **48** : 1006-1011.
- DYER, R. E. — 1933 — Relationship between Rocky Mountain spotted fever and exanthematic typhus of São Paulo. *Pub. Health Rep.* **48** : 512-522.
- FRÓES, H. P. — 1935 — Leishmaniose visceral no Brasil e especialmente na Bahia. *Brasil-Medico* **49** : 109-112.
- GOMES, L. S. — 1935 — Typho exanthematico de São Paulo. *Brasil-Medico* **47** : 919-922.
- GOMES, L. S. — 1941 — Sobre a presença do tifo exantemático do tipo murino ou endêmico em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1** (1) : 21-39.
- MONTEIRO, J. LEMOS — 1933 — O typho exanthematico de S. Paulo e suas relações com a febre maculosa das Montanhas Rochosas, à luz das provas de imunidade cruzada. *Brasil-Medico* **47** : 437-442.
- MONTEIRO, J. LEMOS e F. FONSECA — 1932 — Typho exanthematico de S. Paulo. XII. Sobre um virus isolado de ratos da zona urbana da cidade e suas relações com o do typho de S. Paulo. *Mem. Inst. Butantan* **7** : 41-50.
- PARKER, R. R. e G. E. DAVIS — 1933 — Protective value of convalescent sera of São Paulo exanthematic typhus against virus of Rocky Mountain spotted fever. *Pub. Health Rep.* **48** : 501-507.
- PARKER, R. R. e G. E. DAVIS — 1933a — Further studies on the relationship of the viruses of Rocky Mountain spotted fever and São Paulo exanthematic typhus. *Pub. Health Rep.* **48** : 859-843.
- PASCALE, H. — 1949 — Rickettsioses em São Paulo. *Arq. Hig. Saúde Púb. (S. Paulo)* **14** : 5-37.
- PASCALE, H. e E. CRUZ — 1945 — Considerações sobre rickettsioses nos municípios de Itapiratiba, São João da Boa Vista e São José do Rio Pardo. *Arq. Hig. Saúde Púb. (S. Paulo)* **10** : (24) : 297-304.
- PASCALE, H. e W. S. PRADO — 1945 — Investigação epidemiológica sobre três casos suspeitos de tifo murino no município de Araraquara. *Arq. Hig. Saúde Púb. (S. Paulo)* **10** (24) : 307-310.
- PISA, J., L. S. GOMES, J. MEYER, J. P. FLEURY, O. CASTRO, C. RODRIGUES e H. ROCHA LIMA — 1931 — Le typhus exanthématique à São Paulo. *C. R. Soc. Biol.* **106** : 1020-1022.
- PLOTZ, H. — 1943 — Complement fixation in rickettsial diseases. *Science* **97** : 20-21.
- PLOTZ, H. e K. WERTMAN — 1942 — The use of the complement fixation test in Rocky Mountain spotted fever. *Science* **95** : 441-442.

- PLOTZ, H., R. L. REAGAN e K. WERTMAN — 1944 — Differentiation between fièvre boutonneuse and Rocky Mountain spotted fever by means of complement fixation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 55 : 173-176.
- PLOTZ, H., B. L. BENNETT, K. WERTMAN, M. J. SNYDER e R. L. GAULD — 1948 — The serological pattern in typhus fever. I. Epidemic. *Am. J. Hyg.* 47 (2) : 150-165.
- RODRIGUES, P. M. e J. TRAVASSOS — 1948 — A reação de Bengtson no diagnóstico da febre maculosa das Montanhas Rochosas. *Hospital* 34 (1) : 55-69.
- SAMPAIO CORRÊA, H. — (Comunicação pessoal).
- SCOVILLE JR., A. B., B. L. BENNETT, K. WERTMAN e R. L. GAULD — 1948 — The serological pattern in typhus fever. II. Murine. *Am. J. Hyg.* 47 (2) : 166-176.
- TRAVASSOS, J. — 1938 — La tique *Amblyomma striatum* Koch, 1844, comme vecteur du typhus exanthématique de São Paulo. Infection naturelle en spécimens recueillis sur des chiens, dans un foyer de la Capitale (São Paulo). *C. R. Soc. Biol.* 127-1377-1380.
- TRAVASSOS, J. e E. DIAS — 1939 — Febre maculosa. Identidade imunologica dos virus de Minas Gerais, São Paulo e das Montanhas Rochosas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 34 : 149-179.
- TRAVASSOS, J., P. M. RODRIGUES e L. N. CABRILHO — 1948 — Tifo murino em São Paulo. I. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano. *Mem. Inst. Butantan* 21 : 77-106.
- VIEIRA, F. B. e M. MESQUITA — 1934 — Estudo epidemiológico do tifo exantemático de S. Paulo. *Inst. Hig. S. Paulo. Boletim n.º 51* : 1-20.

