

Inoculação de vírus amarelóico em gatos jovens (*)

por

Herminio Linhares

Atualmente, a sensibilidade de animais de qualquer espécie ao vírus amarelóico, está sendo investigada afim de determinar-se a relação possível com a manutenção das epidemias de febre amarela silvestre.

Embora as pesquisas com os representantes da família dos FELÍDEOS sejam, em geral, muito difíceis, é possível estudar um de seus exemplares, isto é, o gato doméstico. Muitas pesquisas, é verdade, já foram feitas sem, entretanto, estarem de acordo.

Usando uma amostra viscerotrópica (Asibi) para infectar gatos, Monteiro (1) conseguiu, não só infectá-los, como fazer passagem de vírus em outro gato. Em suas experiências, sugere ainda mais, que o sangue de gatos inoculados, colhido depois de 30 dias, fica com o poder de provocar em Rhesus posterior imunidade. Além disso, enquanto as tentativas de Findlay (2) e de Nicolau e Baffet (3) para infetar gatos por via intracerebral com vírus neurotrópicos, foram infrutíferas, Fonseca e Artigas (4) publicaram que gatos jovens são sensíveis ao vírus amarelóico e morrem com sintomas de encefalite, sendo possível fazer passagem de vírus, de gato a gato jovem. Findlay somente conseguiu obter anticorpos protetores nos soros.

Neste trabalho, é nossa intenção contribuir para a resolução deste problema, relatando os resultados obtidos por inoculação intraperitoneal e intracerebral, das amostras, viscerotrópica (Asibi) e neurotrópica (Francês), em gatos jovens.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais : foram usados 27 gatos, de 1 a 4 meses de idade.
2. Amostras de vírus :
 - a) A amostra viscerotrópica (Asibi), usada nestas experiências, foi obtida de soros de Rhesus infectados e sangrados no 3.º ou 4.º dia. O material foi dessecado e reidratado no momento de utilizar.

* Recebido para publicação a 1 de março e dado à publicidade em abril de 1943.

b) O virus neurotrópico usado foi a amostra "Francês", com grande número de passagens em cérebro de camundongos.

3. Inoculação :

Para inoculação intracerebral, fez-se, nos animais previamente anestesiados pelo eter, um pequeno corte na pele, próximo à linha mediana, e em seguida fez-se um pequeno orifício no osso, com um perfurador; introduziu-se a a agulha alguns milímetros e injetou-se a suspensão de virus; ao terminar, colocou-se colódio.

Para inoculação intraperitoneal não foi necessário anestésiar os animais.

Com virus neurotrópico os gatos foram inoculados com 0,25 e 0,50 cm.³ por via intracerebral, e 1,0 e 1,5 cm.³ por via intraperitoneal, da suspensão a 10 % do material, cujo título foi de 2.000.000 D. M. M. Dois gatos foram inoculados com 0,50 cm.³ de suspensão a 10 % de virus centrifugado e filtrado em Seitz, cujo título foi muito baixo (\pm 100.000 D. M. M.).

Com virus Asibi os gatos receberam 0,25 e 0,50 cm.³ por via intracerebral e 0,50 cm.³ por via intraperitoneal do material rehidratado, cujo título foi de 100.000 D. M. M.

4. Observação dos animais :

A temperatura retal foi tomada diariamente, pela manhã, e os gatos examinados todos os dias e registados os sintomas.

Foram sangrados no coração antes e 30 dias depois da inoculação, para prova de proteção em camundongos jovens.

Para pesquisa de virus circulantes, 16 gatos foram sangrados diariamente no coração, do 2º ao 12º dia post-inoculação e o sangue injetado, logo a seguir, no cérebro de camundongos jovens. A pesquisa de virus no sangue foi, além disso, feita sempre que qualquer animal apresentou elevação térmica.

Os animais que morreram foram autopsiados, e, nos suspeitos, foi feito exame anatomopatológico do cérebro; para pesquisa de virus no cérebro ou no fígado, fizemos suspensão a 10 % do material, em solução fisiológica e inoculamos 0,03 cm.³ intracerebral, em grupos de 6 camundongos.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Experiências com virus neurotrópico.

Inoculamos 10 gatos por via intracerebral e 6 por via intraperitoneal. Foram infrutíferas as tentativas de isolar virus em todos os animais inoculados por via intracerebral e sangrados sistematicamente nos 12 primeiros dias post-inoculação. A pesquisa de virus no sangue durante a elevação de temperatura, deu sempre resultado negativo.

Dois gatos inoculados por via intracerebral morreram, um no 8º, outro no 18º dia. Ambos sempre se alimentaram mal, tomando apenas um pouco de leite; a temperatura oscilou, na grande maioria dos dias, entre 35º e 36º C. A sangria diária ainda contribuiu para enfraquecê-los mais, sendo que um deles (5954) morreu em consequência da sangria. Não conseguimos isolar virus nem do sangue nem do cérebro.

Dois gatos, inoculados por via intraperitoneal, morreram, um, com pneumonia no 11º dia e outro, devido à sangria, no 16º dia; neste, tentamos isolar virus no sangue, fígado e cérebro, com resultados negativos, porem, o soro posto em prova de proteção, deu positivo.

Dos 16 gatos observados, nenhum apresentou sintomas que pudessem ser imputados como infecção cerebral por virus amarello (Ver quadro n. I).

Provas de proteção pré-inoculação negativas; provas de proteção post-inoculação com apenas dois resultados negativos.

QUADRO N. I

RESULTADOS DA INOCULAÇÃO DE GATOS COM VIRUS NEUROTÓRICO

VIA DE INOC.	D. M. M. INOCULADA	N. DO ANIMAL	PESO EM GRS.	OBSERVAÇÕES POST-INOCULAÇÃO			
				Dias com febre	Sintomas	Resultados	Prova de proteção
i. c.....	1.600.000	5944	1540	6º, 7º, 8º	—	sobreviveu	positiva
i' c.....	1.600.000	5946	1260	—	—	sobreviveu	negativa
i. c.....	800.000	5950	310	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	800.000	5951	280	—	anorexia hipotermia	morreu no 18º dia	—
i. c.....	800.000	5952	320	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	800.000	5953	300	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	800.000	5954	320	—	anorexia hipotermia	morreu na sangria 8º d.	—
i. c.....	800.000	5955	340	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	160.000	5947	570	3º, 4º	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	160.000	5948	810	1º, 2º, 3º	—	sobreviveu	positiva
i. p.....	5.000.000	12	1300	14º, 15º	—	morreu na sang. 16º d.	positiva
i. p.....	5.000.000	13	1500	—	—	sobreviveu	positiva
i. p.....	3.200.000	3	700	—	anorexia	morreu de pneumon. 11º d.	—
i. p.....	3.200.000	4	900	8º	—	sobreviveu	negativa
i. p.....	3.200.000	5	1400	—	—	sobreviveu	positiva
i. p.....	3.200.000	6	800	—	—	sobreviveu	positiva

2. Experiências com virus Asibi.

Inoculamos 8 gatos por via intracerebral e 3 por via intraperitoneal.

Não obtivemos virus circulante nos animais sangrados do 2.º ao 12.º dia, nem mesmo durante o acesso febril (sangramos 3 gatos inoculados por via intracerebral e 3 por via intraperitoneal).

Morreram 3 gatos inoculados por via intracerebral.

- a) Gato 10: foi encontrado morto no 11º dia. A autópsia revelou grande derrame no pericárdio, provavelmente devido à sangria. Foi feito exame anatomopatológico do cérebro, que nada demonstrou.
- b) Gato 11: morreu no 12º dia; parece, pelo resultado da autópsia, que este animal morreu de pneumonia. Não conseguimos isolar virus do cérebro. O exame anatomopatológico do cérebro foi negativo.
- c) Gato 5967: este caso é mais interessante; três dias após a inoculação, o gato começou a se alimentar mal e a temperatura, a partir do 4º dia, foi inferior a 36º. No 7.º dia apresentou sintomas de encefalite. Foi sacrificado neste dia; exames bacteriológicos feitos com sangue, cérebro e fígado, foram negativos; não foi possível isolar virus do cérebro. Fizemos várias preparações do cérebro para exame anatomopatológico, que nos revelou: presença no cortex cerebral de pequenos focos de necrose, de neuronólise, hiperemia capilar e certa infiltração linfocitária, ora difusa, ora perivascular. Trata-se de um processo de encefalite pouco acentuado, sem semelhança ao que comumente produzem os virus neurotrópicos. Provavelmente encefalite tóxica.

Todos os outros animais nada demonstraram digno de nota. As provas de proteção pré-inoculação foram negativas; as provas de proteção post-inoculação deram resultados negativos para todos os animais que receberam virus por via intraperitoneal e 2 casos positivos para os gatos inoculados por via intracerebral (Ver quadro n. II).

DISCUSSÃO

No transcurso de nossas experiências morreram 7 gatos, mas, quer pela inexistência de sintomas, quer pelos resultados anatomopatológicos e das autópsias, foram afastadas as possibilidades das mortes serem resultantes de um processo infeccioso por virus amarílico.

QUADRO N. II

RESULTADOS DA INOCULAÇÃO DE GATOS COM VIRUS ASIBI.

VIA DE INOC.	D. M. M. INOCULADA	N.º DO ANIMAL	PESO EM GRS.	OBSERVAÇÕES POST-INOCULAÇÃO			
				Dias com febre	Sintomas	Resultados	Prova de proteção
i. c.....	1.600.000	7	640	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	1.600.000	8	1000	—	—	sobreviveu	positiva
i. c.....	1.600.000	9	2000	—	—	sobreviveu	negativa
i. c.....	1.600.000	10	1500	6º e 7º	anorexia de 7º ao 11º d.	morto sang. 11º dia	—
i. c.....	1.600.000	11	1400	11º	anorexia do 9º ao 12º d.	morto pneum. 12º dia	—
i. c.....	800.000	5967	335	—	anorexia; encefalite	sacrificado 7º dia	—
i. c.....	800.000	5968	860	—	—	sobreviveu	negativa
i. c.....	800.000	5969	940	7º	—	sobreviveu	negativa
i. p.....	1.600.000	5965	490	—	—	sobreviveu	negativa
i. p.....	1.600.000	5966	460	—	—	sobreviveu	negativa
i. p.....	1.600.000	5970	786	—	—	sobreviveu	negativa

Nossos resultados foram semelhantes aos de Findlay; Fonseca e Artigas, que concluíram serem gatos jovens sensíveis ao vírus amarílico neurotrópico por via intracerebral, não fizeram provas que demonstrassem a especificidade do vírus.

E' quase nula a sensibilidade de gatos, mesmo jovens, sendo apenas possível obtermos anticorpos protetores no soro quando doses elevadas de vírus neurotrópico e Asibi são inoculadas.

Não nos foi possível obter vírus circulante pesquisado do 2.º ao 12.º dia, post-inoculação de vírus Asibi e neurotrópico, num total de 16 gatos; a presença de vírus no sangue dos gatos, 30 dias após a inoculação e com o qual conseguiu Monteiro imunizar Rhesus, leva-nos à suposição de estarem já os Rhesus imunizados quando foram inoculados, o que não é raro, quando existem outros animais em experiência na mesma sala.

A prova de desvio de complemento, utilizada por Monteiro, é falha, podendo ser causa de frequentes erros.

Não nos foi possível isolar do cérebro vírus de nenhum animal morto durante o período de observação. As tentativas de isolamento de vírus do sangue, quando apresentaram elevação térmica, foram infrutíferas.

Tudo nos leva a supor que estes animais não desempenhem qualquer papel como reservatórios naturais de virus, capazes de influenciar no problema epidemiológico da febre amarela.

SUMÁRIO

1. Gatos jovens inoculados por via intracerebral com doses relativamente grandes de virus neurotrópico ou viscerotrópico, e por via intraperitoneal com virus viscerotrópico, não demonstram virus circulante até o 12.º dia.
2. Tais gatos também não demonstraram sintomas ligados à infecção amarílica.
3. Foi impossível isolar virus do cérebro dos gatos que morreram no decurso das observações e os exames anatomopatológicos não demonstraram ter havido processo de encefalite (apenas um caso de encefalite tóxica).
4. O desenvolvimento de imunidade serológica, após a inoculação de virus neurotrópico por via intracerebral e intraperitoneal, foi observado na grande maioria dos casos; com virus Asibi, obtivemos apenas dois resultados positivos quando o virus foi inoculado por via intracerebral.

CONCLUSÃO

Gatos jovens são relativamente insensíveis ao virus amarílico, sendo possível apenas evidenciar reação de imunidade.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. Young cats inoculated intracerebrally with relatively large doses of neurotropic or viscerotropic virus, and intraperitoneally with viscerotropic virus fail to show circulating virus up to 12 days post-inoculation.
2. Such cats also fail to show symptoms referable to the virus.
3. It was impossible to isolate virus from the brains of inoculated cats dying in the course of the experiments, and histological examinations of the brains failed to show escephalitis (only one case with toxic encephalitis).

4. The development of serological immunity after 30 days was observed in all but two of the cats inoculated intracerebrally or intraperitoneally with neurotropic virus; with Asibi strain, only two positive results were obtained, with the intracerebral route.
5. Young cats are relatively unsusceptible to yellow fever virus, only giving the reaction of immunity.

BIBLIOGRAFIA

1. MONTEIRO, J. L. : *Brasil Médico* : 44, 1087, 1930.
 2. FINDLAY, G. M. : *J. Path. and Bact.* : 38, 1, 1934.
 3. NICOLAU, S. e BAFFET, O. : *Bull. Soc. Path. Exot.* : 30, 611, 1937.
 4. FONSECA F. da e ARTIGAS, P.: *Mem. Inst. Butantan* : 12, 225, 1939.
-