

Possibilidades de transmissão e vias de inoculação da lepra murina em ratos e outros animais (*)

por

Herminio Linhares

O estudo da lepra murina tem grande importância pelo fato da semelhança das lesões causadas nos ratos com as encontradas no homem. Ambas são produzidas por um bacilo ácido álcool resistente; e como a lepra humana é muito difícil de ser estudada em animais, a lepra dos ratos pode em muitos pontos servir para estudos comparativos.

Pretendemos fazer neste trabalho uma revisão e algumas pequenas contribuições sobre a transmissão da infecção, seja por processos naturais, seja por processos experimentais utilizados nos laboratórios. Em regra estudamos os dois processos juntos porque muita vez tentamos em laboratório reproduzir um tipo de infecção como se deveria dar na natureza ou então, usando artifícios de técnica que viriam melhor precisar certos aspectos obscuros. Assim, por exemplo, se alimentarmos um rato com material infectado o animal pode vir a ter lepra murina. Neste caso, porém, ficamos sem saber se os bacilos penetraram através da mucosa bucal, faríngea, do estômago ou intestino. Por artifício de técnica, entretanto, é possível averiguar se a infecção se dá através de uma em particular ou de todas estas mucosas.

Outro aspecto interessante do problema é a infecção de outros animais com lepra murina. Se bem que esta doença seja peculiar aos ratos, e principalmente ao *Rattus norvegicus*, como tivemos oportunidade de averiguar (38), alguns outros animais apresentam certa suscetibilidade à infecção experimental.

A primeira tentativa de inoculação em rato foi feita por Stefansky (83) com resultado negativo. Dean (18) conseguiu, porém, infectá-los. Tais resultados foram confirmados por McCoy (63), Alexandrescu (1), Marchoux e Sorel (59), Muir e Henderson (64) e muitos outros.

A não serem as observações de Gavrilov, Dubois e Fester (21), os pesquisadores são concordes que os ratos, quando inoculados experimentalmente,

* Recebido para publicação a 26 de março e dado à publicidade em junho de 1943.

se infectam em quase 100 % dos casos. Eles pensam que tal desacôrdo resida na influência do clima e das condições de vida.

Nosso trabalho será dividido em duas partes. A primeira constará das vias de infecção natural ou experimental em ratos. A segunda parte tratará da inoculação de outros animais com o bacilo de Stefansky, em particular pintos, pombos e gambás.

1.^a Parte : VIAS DE INFECÇÃO DOS RATOS.

As vias de introdução dos bacilos teem muitas vezes importância fundamental na disseminação da doença pelo organismo. Estudaremos cada uma delas separadamente.

a) *Transmissão por artrópodos*

Muitas observações teem sido feitas afim de averiguar se os artrópodos podem ou não transmitir a lepra murina, ou se ao menos os que parasitam animais infectados albergam bacilos ácido álcool resistentes.

A presença de bacilos em insetos ou outros artópodos não significa que eles transmitam a doença. Em muitos casos os bacilos podem ser digeridos e mesmo que permaneçam durante algum tempo dentro do animal sugador pode não haver possibilidade de transmissão. Por outro lado alguns insetos podem ter apenas um papel de transportador dos bacilos, carregando-os, por exemplo, nas patas.

E' preciso demonstrar, antes de admitir, que os bacilos encontrados no tubo digestivo de alguns artrópodos, são capazes de produzir infecção em rato sadio, por um meio natural.

Wherry (99) alimentou um certo número de *Lucilia caesar*, *Calliphora vomitoria* e *Musca domestica* em um cadaver de rato muito infectado. As fezes destas moscas encerravam numerosos bacilos durante as primeiras vinte e quatro horas. Após 40 a 48 horas não foi mais possível evidenciá-los. Também lavras de *C. vomitoria* retiradas de um animal morto com infecção, estavam cheias de bacilos. Conclue que as larvas apanhadas em material leproso estão infectadas, porém os bacilos são logo excretados; as larvas de moscas mantidas sôbre material muito contaminado apresentam numerosos bacilos antes de metamorfose, porém não depois. Wherry (100) encontrou também em um piolho (*Haematopinus spinulosus*) de rato infectado, bacilos ácido álcool resistentes.

Currie e Hollmann (16) verificaram que em ratos com lepra murina encontram-se *Laelaps echidninus* que contem muitos bacilos. Durante o estado

septicêmico da moléstia os ácaros podem infectar o tubo digestivo e assim transmitir a infecção. Não está, porém, provado que tais parasitos tenham um papel de agentes vetores da doença. Currie e Hollmann (17) retiraram 32 *L. echidninus* de um rato muito infectado e colocaram em três outros; cerca de um ano depois sacrificaram os animais, mas não foi evidenciada infecção. Também capturaram 100 moscas domésticas que haviam sido alimentadas em material de lepra murina e colocaram-nas em uma caixa com dois ratos sadios cuja pele fôra escarificada afim de facilitar a infecção; os resultados foram negativos.

Marchoux e Sorel (60) fizeram uma série de pesquisas em diversos parasitos, principalmente com um piolho do rato (*Haematopinus spinulosus*) em uma pulga (*Ctenocephalus serraticeps*) e em um ácaro (*Laelaps echidninus*). Foram vãs as pesquisas feitas para descobrir bacilos no tubo digestivo ou órgãos de pulgas que se alimentaram em animais muito infectados. Nos piolhos eles encontram bacilos ácido resistentes, mas com aspecto diferente dos de Stefansky. Em *Laelaps* observaram três espécies de bacilos ácido resistentes: curtos, semelhantes aos vistos nos piolhos; longos, filamentosos, não ácido resistentes; numerosas fórmulas semelhantes às encontradas na lepra murina. Creem que os Sarcoptes da sarna não podem ter senão um papel indireto na difusão da lepra.

Marchoux (43, 44, 45), em outros trabalhos, diz não ter conseguido transmitir a doença por picada em ratos sadios, apesar de ter trabalhado com grande número de cada uma das espécies de artrópodos utilizadas. Conclue que as picadas de insetos não são responsáveis pela transmissão da doença de Stafansky; os Sarcoptes, os Demodex e as moscas podem ter um papel acessório.

Em 1916, Marchoux (46) publicou um trabalho sobre a transmissão da lepra murina pela *Musca domestica*. Ele alimentou-as em material de rato leproso e em seguida colocou-as em ratos com escarificações artificiais. As moscas aí se alimentaram e os ratos ficaram doentes. Tal fato, porém, não ocorreu com as moscas colocadas junto de ratos sadios somente depois de 24 horas de contacto com o material leproso. Assim ele verificou que: as moscas veiculam os bacilos nas patas e na probóscida; as fêmeas absorvem mais material que os machos e conservam-no mais tempo nos intestinos; os bacilos permanecem no tubo digestivo durante pelo menos quatro dias, mas não se multiplicam; os bacilos não morrem no intestino destes dípteros. A infecção se faz nas circunvizinhanças do animal doente, não porque as moscas não se afastem, mas sim porque os germes depositados nelas sofrem dissecação rápida e morrem. Marchoux conclue que na natureza a transmissão da infecção por moscas pode se dar, porém é muito rara.

Uchida (85) encontrou bacilos em pulgas capturadas em rato leproso e conseguiu infecção inoculando o triturado.

Markianos (61) não conseguiu transmitir a lepra murina por picada de piolhos alimentados em ratos doentes, mas reproduziu a infecção após triturar e injetar os piolhos infectados.

Há um trabalho de Ichihara (28) sobre a transmissão da lepra murina por um ácaro (*Laelaps nezumi kishida*) o qual não conseguimos obter.

Por fim, em 1939, Marchoux e Chorine (55) dizem que os *Haematopinus spinulosus* e os *Laelaps echidninus* apanhados em animais infectados não transmitem a lepra murina a ratos sadios, se bem que o bacilo possa sobreviver nos *Laelaps* pelo menos por três dias, como demonstraram pela inoculação do triturado destes parasitos.

Nós observamos várias vezes em *Polyplax spinulosa* (Burmeister) apanhados em ratos com lepra murina, bacilos ácido álcool resistentes, algumas vezes em grande número. Estes parasitos que em certos casos são abundantíssimos nos animais doentes, foram levados antes de examinados, em ácido sulfúrico a 5 %. Depois de pelo menos meia hora foram triturados e feitos esfregaços que, corados pelo Ziehl-Neelsen, evidenciavam bacilos semelhantes aos de Stefansky. Não queremos com isto dizer que tais artrópodos sejam transmissores da infecção, porque eles podem albergar os bacilos sem contudo ter capacidade de transmitir a outros animais, o que é provável.

Com um material de *Polyplax* muito rico em bacilos fizemos cultura em 12 tubos com meio de Löwenstein mas nada obtivemos.

b) Infecção por via gastro-intestinal

Esta via tem um interêsse todo particular porque os ratos, animais muito agressivos, se empenham com frequência em lutas e são mesmo capazes de devorar os que morreram. Porisso a via gastro-intestinal é uma das prováveis rotas de infecção natural, pois mesmo experimentalmente tem se conseguido várias vezes reproduzir a doença por administração de alimento contendo material leproso.

Marchoux e Sorel (60) alimentaram ratos jovens com material fortemente infectado. Em oito deles, dois ficaram leprosos e um outro apresentou bacilos nos gânglios mesentéricos e mediastínicos.

Muir e Henderson (64) repetiram essas experiências e também obtiveram resultados positivos. Foi porém necessário um longo período de incubação.

Marchoux e Chorine (49) obtiveram bons resultados usando sondas; creem ter demonstrado a permeabilidade da mucosa intestinal. Eles chamam a atenção sobre a possibilidade de infecção por via digestiva na lepra humana.

Marchoux e Chorine (52) conseguiram também infectar ratos através da mucosa bucal. Tôdas as precauções foram tomadas para não contaminar o esôfago. Em um, entre cinco ratos, desenvolveu-se infecção nos gânglios submaxilares.

Marchoux e Chorine (51) infectaram ratos instilando no reto emulsão contendo bacilos de Stefansky. Nos gânglios mesentéricos encontram bacilos.

Watanabe (91) conseguiu produzir infecção por via oral. Não encontrou modificações dos gânglios mesentéricos. Apenas em um caso, cinco meses após a administração de material leproso, foram encontrados bacilos ácido-resistentes nos gânglios axilares, em pequeno número.

Nós administrámos a cinco ratos brancos adultos, emulsão de leproma recém extirpado de rato, e muito rico em bacilos. Afim de evitarmos contaminação pela mucosa bucal ou faríngea, fizemos finas sondas de vidro que foram adaptadas a serigas de tuberculina. Os ratos foram anestesiados com éter e a sonda facilmente introduzida. Cada animal recebeu 1 c.c. da emulsão.

Todos êles se infectaram. Foram examinados a partir do quinto mês; os gânglios mesentéricos de três deles estavam hipertrofiados. Havia bacilos não só nestes gânglios, como também nos superficiais e nos órgãos internos. O pulmão de um deles apresentava-se riquíssimo em bacilos, contendo mesmo globias (quadro n. 1.).

Verificamos, portanto, que os ratos se infectam por via gastro-intestinal com facilidade. Talvez na natureza esta seja uma das vias de infecção, porque os ratos devoram às vezes o cadáver de outros e, se dentre êstes, algum estiver infectado, pode contaminar o rato sadio.

QUADRO N. 1

PESQUISA DE BACILOS ÁCIDO ALCOOL RESISTENTES EM RATOS QUE RECEBERAM 1 CC. DE EMULSÃO DE LEPROMA POR VIA GASTRICA

N.º DO ANIMAL	TEMPO DE INOCULAÇÃO	PESQUISA DE BACILOS						
		Ganglio mesen.	Ganglio axilar	Ganglio inguinal	Pulmão	Fígado	Baço	Rim
1.....	169 dias	+	+	+	++⊕	+	++	+
2.....	201 »	++	+	+	++	++	++	+
3.....	213 »	++	+	+	++	+	++	--
4.....	222 »	++	+	+	++	++	++	+
5.....	276 »	++	+	+	+	++	++	+

c) *Infecção através da pele.*

Muitas são as pesquisas feitas até hoje afim de averiguar se os bacilos penetram através da pele íntegra ou com soluções de continuidade. Normalmente a pele é uma barreira natural à entrada dos bacilos. Entretanto, como na lepra murina as lesões dos gânglios superficiais e mesmo da pele são as mais frequentes não parece ilógico supor que a doença tem uma origem superficial.

Currie e Hollmann (17) colocaram 11 ratos sadios junto a diversos outros doentes. Depois de permanecerem assim por alguns meses foram isolados e mais tarde examinados. Sete deles estavam doentes. Tratar-se-ia neste caso de infecção produzida por escarificações, tão frequentes nos ratos?

Fato mais interessante foi visto por Wayson (97): ratos normais separados a alguma distância de outros doentes ficaram por sua vez doentes. Marchoux e Sorel (60) acham que a pele normal é uma barreira natural à infecção. Entretanto, se forem feitas escarificações ou mesmo uma simples depilação, a infecção se processa. Eles fizeram escarificações ligeiras em seis ratinhos e esfregaram nestas áreas material de lepra murina. Em todos os animais a infecção se processou. Mais tarde, Marchoux (44) disse que o contacto direto e as mordeduras talvez fossem a única via natural de importância.

Lampe e Moor (34) infectaram animais friccionando fortemente o material contaminado, até mesmo a saída de sangue. Eles trabalharam não só com ratos normais como também com outros em hipovitaminose. Conseguiram infecção experimental em mais de 90 % dos casos. Lampe (32) fez também em um grupo de ratos, fricções sangrentas com lama proveniente da casa de leprosos onde também haviam sido capturados ratos doentes. Os animais ficaram seis meses em contacto com o conteúdo de esgotos e com lama. Verificou que ratos de laboratório sem contacto direto com animais doentes podem apresentar manifestações que bacterioscópica, histopatológica e clinicamente não se distinguem da lepra murina natural. Os animais em regime de hipovitaminose B2 foram os mais atingidos. Lampe, Moor e Van Veen (35, 36) prosseguiram estas experiências com a lepra de lama, usando fricções sangrentas para infectar os animais e obtiveram resultados os mais diversos.

Lampe e Lobel (33) continuando nos estudos sobre infecção por contacto, conseguiram infectar ratos brancos jovens, após contacto íntimo com outros doentes, nos quais haviam lesões cutâneas. Quando a fôrma era a ganglionar não reproduziram a infecção; dizem que a transmissão nesta forma da doença, que é a mais comum, é incerta.

Marchoux e Chorine (53) observaram que as menores lesões superficiais, tais como erosões e arrancamentos de pêlos, permitem a penetração dos bacilos. Eles verificaram (56) que a infecção somente se produz quando há lesão no bulbo piloso permitindo a penetração dos bacilos através do local lesado.

Walker e Sweeney (89, 90) creem que a lepra é uma doença do solo e os ratos a contraem por contaminação das feridas.

Ohtawara e Ichihara (68) dizem que a doença é mais frequente em ratos capturados em casas de cereais, em quitandas ou outras casas similares; eles pensam que bacilos podem ser transmitidos por intermédio de grãos ou cereais ou mesmo pela terra.

Como os ratos são animais muito lutadores é bastante provável que produzindo soluções de continuidade na pele estas sirvam de porta de entrada quando ficam em contacto com lesões da lepra murina. É também possível que a mordedura de um rato infectado seja capaz de transmitir a infecção.

d) Transmissão congênita.

Pouco são os trabalhos feitos sobre este assunto em lepra murina.

Marchoux (47) pensa que infecção congênita nunca se dá. Ele verificou que ratos oriundos de fêmea infectada e dela separados não apresentam mais tarde a lepra dos ratos. Em período adiantado da infecção os órgãos genitais dos adultos são atingidos, havendo esterilidade.

Em 1931 Le Guyon (37) observou que filhos de fêmeas de ratos leproso morriam três a cinco semanas depois do nascimento sem que a autópsia revelasse sinais de infecção. Resolveu amamentar filhos de ratas leprosas em outras normais e viceversa. Verificou que os ratos nascidos de fêmea normal aleitados em ratas doentes morriam antes de cinco semanas, enquanto os alimentados em fêmea normal ficavam sadios, apesar de serem filhos de fêmea doente. Tal fato mostra que não há infecção hereditária. A morte se processa aparentemente devido à má nutrição no período de aleitamento pois a fêmea doente pode ter as glândulas mamárias afetadas. A pesquisa do bacilo não foi feita no leite.

Watanabe (92) observou que ratinhos, filhos de um ou de dois ratos leproso não mostram resistência à infecção experimental, mas também sua sensibilidade não é maior que nos provenientes de ratos normais. Por consequência a lepra dos ratos não é hereditária e a infecção paterna não confere às crias resistência ou sensibilidade especial à molestia.

Hatta (25) não encontrou diferença na suscetibilidade à infecção experimental em ratos jovens cujo pai, mãe ou ambos eram leprosos, em relação aos nascidos de pais normais. Infecção de ratos jovens, guardados com pais leprosos, não foi observada.

Ainda existe um trabalho de Nakamura (65) sobre este assunto, o qual não foi possível obter.

Já tivemos oportunidade de examinar fetos de ratas leprosas sem contudo encontrarmos bacilos. Também já fizemos pesquisas idênticas em ratos jovens criados dentro da mesma gaiola e oriundos de ambos os pais leprosos; mas, pelo menos no primeiro mês, não nos foi possível encontrar bacilos nem nos gânglios linfáticos superficiais nem nos órgãos internos.

e) *Instilação nasal.*

O achado de bacilos ácido álcool resistentes no muco nasal de ratos infectados sugeriu que pudesse ser este o local inicial de infecção, ou pelo menos uma fácil via para a produção de lepra murina experimental. Dean (18), Wherry (99), Marchoux e Sorel (59), Souza Araujo (82) e outros encontraram bacilos na secreção nasal dos ratos com lepra. Marchoux e Sorel (59) tentaram infectar ratos por esta via com resultados negativos. Burnet (11) porem conseguiu infectá-los; ele diz que em geral a instilação determina infecção pulmonar em camondongo, porém o rato é menos sensível por esta via.

Wayson e Masunaga (98) fizeram um trabalho muito interessante sobre a possibilidade de infecção por via nasal. Eles conseguiram infectar ratos por simples instilação de algumas gotas de suspensão de tumor de rato. Não produziram traumatismo na mucosa nasal.

f) *Via subcutânea.*

Esta via tem sido a mais usada, não só para as passagens em série, como também para várias outras experiências.

Dean (18) conseguiu obter lesões na pele, no local da inoculação, assim como lesões generalizadas capazes de serem reproduzidas em série. Idênticos resultados obtiveram Marchoux e Sorel (59) se bem que raramente encontrassem lesões cutâneas locais.

Muitas outras observações foram feitas com resultados semelhantes e podemos citar Fukamachi (20), Uchida (84, 85), Henderson (27), Lowe (41), Souza Araujo (82), Lampe e Moor (34).

Badger e Sebrell (3) inocularam por esta via ratos brancos normais e com alimentação deficiente em vitamina B1. Verificaram que o período de incubação da doença para os ratos em regime carente de vitamina foi muito menor do que nos com alimentação normal.

Marchoux e Chorine (50) verificaram que cinco bacilos de Stefansky são suficientes para infectar o rato branco quando são introduzidos por via subcutânea. Os mesmos resultados que se obtem em quatro ou cinco meses inoculando grandes doses, podem ser obtidos em oito meses se se inocula 500 bacilos, em nove meses se 50, ou em 10 meses para oito bacilos. Kawamura e Uchida (30) também observaram a relação existente entre a quantidade de bacilos e o tempo da infecção no rato.

Em outras experiências, Marchoux e Chorine (54) observaram que o fenômeno de Koch não se produz em ratos reinoculados com bacilos de Stefansky. Ao contrário, resulta uma nova infecção que agrava a primeira e é tanto maior quanto mais numerosas forem as inoculações. Burnet (10) também chegou às mesmas conclusões. Viu que, após inoculações repetidas, há um aumento da sensibilidade, mas não uma alergia específica.

Watanabe (94) inoculou por esta via ratos normais, com emulsão de bacilos da lepra murina mortos por aquecimento a 70.°C; em tais animais desenvolveu-se um certo grau de resistência a inoculações subsequentes de emulsão de leproma fresco de rato. Por outro lado, a inoculação em ratos, de uma emulsão de leproma humano aquecido, não conferiu proteção contra a subsequente infecção de lepra murina.

Uchida (86, 87) observou que ratos infectados por via subcutânea e alimentados em regime carente de vitamina A, são mais sensíveis à falta desta vitamina que os ratos normais alimentados de modo idêntico. Após uma série de experiências êle conclue que a vitamina A retarda o aparecimento das alterações mórbidas do rato, mas a vitamina B não tem esta influência.

Esta via tem sido usada comumente pelos pesquisadores e os resultados mostram-se semelhantes aos obtidos após inoculação subcutânea.

g) Inoculação intraperitoneal

Dean (18) assinalou lesões extensas após a inoculação intraperitoneal. Elas consistiam em nódulos, infiltração de epiplon por massas ricas em bacilos fagocitados, lesões dos gânglios mediastínicos e por fim infecção geral.

Mazza (62) injetou bacilos de Stefansky por via intraperitoneal em ratos e cobaias. Verificou que os bacilos são absorvidos rapidamente pelos polinucleares, sobretudo no início. Um certo número dêles são destruídos, os

núcleos entram em picnose e são englobados com os parasitos que encerram, pelos mononucleares.

Nossas observações sôbre esta via são perfeitamente idênticas às dos outros pesquisadores.

h) Inoculação intradérmica

Lowe (41) conseguiu com êste método produzir lesões cutâneas assim como alterações ganglionares. Após um ano da inoculação a infecção generalizou-se.

Esta via foi usada por Lyon (42) que fez inoculações de uma emulsão do bacilo de Stefansky preparada segundo a técnica de Mitsuda. Êle verificou que não havia reação nítida nem em rato leproso nem sadio. Assim, o rato não reage à leprolina de Mitsuda.

i) Inoculação intracardiaca

Lowe (40) conseguiu produzir lesões cutâneas e ganglionares e mais tarde generalização da infecção quando utilizou esta via.

j) Inoculação venosa

Bernard (5) produziu infecção generalizada após inoculação venosa.

Watanabe (93) também observou alterações leprosas nos órgãos internos dos ratos inoculados por êste processo.

Esta via serviu a Grall (23) para o estudo do bloqueio do sistema retículo endotelial na lepra murina. Inoculou carmim, tinta da China e carvão animal e pouco depois, pela mesma via, emulsão de leproma do rato. A diferença do grau de infecção nos animais com bloqueio e nos controles foi muito ligeira. A evolução da lepra não foi modificada pelo bloqueio.

k) Inoculação intraocular

Guilliny e Montestruc (24) produziram lesões no corpo ciliar por inoculação na câmara interior do olho.

Chorine, Guilliny e Montestruc (15) inocularam bacilos na câmara anterior do olho e observaram mais tarde formação de leproma que teve sua origem nos processos ciliares, se estendeu à iris, à coróide anterior e à esclerótica, mas se desenvolveu sobretudo na zona anterior do olho. Não houve extensão da infecção para o lado das meninges cerebrais.

Chauchard e Chorine (13) também utilizaram esta via.

Marchoux, Chorine e Koechlin (57) verificaram a possibilidade de infecção depositando na conjuntiva uma gota de emulsão rica em bacilos de Stefansky. Não se formou cancro de inoculação no ponto em que os bacilos penetraram no tecido e nenhuma modificação histológica marcou a passagem.

Marchoux e Chorine (48) observaram que a contaminação de ratos recém-nascidos em contacto com fêmeas, que apresentavam ulcerações, se deu por penetração dos bacilos pelo olho. Os ratos adultos postos em contacto com outros que apresentam ulcerações bacilíferas se infectaram pela conjuntiva tão facilmente como os jovens. A suscetibilidade nos ratos jovens não é maior que nos adultos.

1) Via intracerebral

Chauchard e Chorine (13) infectaram ratos por via intracerebral. Estudaram as modificações da excitabilidade nervosa nos ratos infectados por êste modo ou por via ocular. Nos ratos com lepra murina observaram uma diminuição nítida da reobase e um aumento das cronaxias tanto mais acentuado quanto mais avançada está a molestia. Ratos leprososem sem terem lesões aparentes do sistema nervoso demonstraram hipersensibilidade periférica à qual vem se superpor uma ação de subordinação dos centros, de ordem nitidamente patológica.

Esta via foi usada por Sellards e Pinkerton (80) com resultados favoráveis. Eles verificaram (81) que a infecção se desenvolve rapidamente após a introdução de bacilos de Stefansky no cérebro ou no baço. Depois da injeção intracerebral as células leprosas formam acúmulos nas regiões perivasculares e aracnoides se espalhando por toda a superfície do cérebro e da medula. Elas se distribuem sob o neurilema dos nervos periféricos produzindo uma atrofia nervosa.

Marchoux, Chorine e Koechlin (58) verificaram que os ratos podem sobreviver após a inoculação dos bacilos da lepra murina dentro das membranas cerebrais e mesmo dentro do proprio cérebro. As membranas, principalmente a duramater, tornam-se rapidamente infectadas. A inoculação por via ocular às vezes se estende às membranas cerebrais. Neste caso lepromas podem se desenvolver na substância nervosa do cérebro com comprometimento do endotélio vascular e tecido perivascular. Se os bacilos atingem o nervo ciático os linfáticos adjacentes são muito afectados. Sintomas de irritação meníngea puderam ser observados.

Watanabe (91) inoculou 0,05 c.c. de emulsão de tecido leproso de rato por via subdural. A única alteração encontrada foi infiltração da duramater no local da inoculação. Foram observados poucos bacilos no baço, fígado e

gânglios linfáticos superficiais, especialmente os axilares. Encontrou poucos bacilos no cérebro, na medula e no liquor em certos casos.

Papaioannu (75) observou que após a inoculação intracerebral os ratos ficam caquéticos e morrem em três meses. Pela autópsia, numerosos bacilos foram encontrados no cérebro e nas vísceras, sobretudo no fígado.

m) Infecção genital

Marchoux e Sorel (59) conseguiram infectar ratos machos colocando no prepúcio material de rato leproso.

Chorine e Berny (14) infectaram fêmeas colocando emulsão na vagina. Não observaram cancro local, mas a mucosa foi atravessada pelos bacilos, dando infecção generalizada. Concluem que nos ratos machos ou fêmeas a infecção pode se dar por passagem de bacilos através da mucosa genital. Eles sugerem a possibilidade de haver casos semelhantes no homem.

2.^a Parte: INOCULAÇÃO DE BACIOS DE STEFANSKY EM ANIMAIS

Há sempre interêsse, quando se estuda um agente patogênico, averiguar quais os animais sensíveis às inoculações, afim de melhor ser estudada a doença por êle produzida.

O bacilo da lepra dos ratos tem sido inoculado em muitos animais e os resultados obtidos são geralmente concordes.

Dean (18) não pode infectar cobaia, coelho, camondongo e macaco (Rhesus). Muir e Henderson (64) não conseguiram infectar macacos, coelhos, e Hamsters chineses.

Sato (76), após uma série de experiências concluiu que o bacilo da lepra murina é um agente patogênico peculiar dos ratos e camondongos e que não produz infecção na cobaia, coelho e no esquilo, mas pode causar na galinha formação mais ou menos nítida de nódulos, no local da inoculação.

Demandez (19) alimentou com leproma de rato, durante muitos meses, peixe de aquário, não tendo conseguido infecção apesar de bacilos ácidos resistentes terem sido encontrados nos intestinos um mês depois. Com inoculações simultâneas de extrato acetônico de bacilo da tuberculose e bacilo de Stefansky (10 injeções) conseguiu lesão local no coelho, sem generalização. Os bacilos da lesão foram patogênicos para o rato.

Urabe (88) verificou a suscetibilidade da *Eutamia asiaticus orientalis* após inoculação subcutânea com bacilos da lepra murina. A resposta local foi mais pronta e mais intensa do que nos ratos brancos. Depois de cinco meses foram encontrados nódulos e alterações histopatológicas da lepra murina nos gânglios linfáticos e nos órgãos.

Watanabe (93) não conseguiu infectar cobaias, coelhos e macacos por inoculação subcutânea e intratesticular de emulsão de nódulos de rato infectado.

Balfour-Jones (4) verificou que o Hamster é suscetível à inoculação subcutânea e intraperitoneal. As lesões mais frequentes foram observadas no fígado e no baço, mas em certos casos os pulmões e rins também estavam atingidos.

Berny (6, 7) inoculou coelho e cobaia e observou empastamento local, principalmente na primeira semana, o qual pode supurar ou ser reabsorvido. Averiguou também que o bacilo permanece vivo na cobaia pelo menos por 39 dias. Mais tarde verificou com Tanguy (8) que o bacilo de Stefansky conserva sua ação patogênica para o rato após dois meses na cobaia, sem poder afirmar que eles estão no limite da vitalidade. Notaram, porém, que quanto mais tempo os bacilos permanecem na cobaia, tanto mais tarde aparece a moléstia no rato.

Ohtawara, Ichihara e Suzuki (69) escreveram um trabalho sobre a conservação do bacilo da lepra murina no corpo de animais refratários. Nós não conseguimos obter este artigo.

Schlossberger e Koch (79) infectaram camundongos e cobaias, porém não em grande número. Eles pensam que as variações nos resultados obtidos pelos diversos autores sejam devidas a diferenças biológicas das amostras usadas.

Laigret (31) inoculou coelhos e cobaias com bacilos de Stefansky. Os animais haviam recebido também um extrato acetônico de bacilos da tuberculose. Ele verificou que tal extrato produz um princípio de generalização da lepra murina em animais considerados refratários.

Gavrilov, Dubois e Fester (22) observaram que certos regimes alimentares carenciais, especialmente a deficiência em vitaminas, pode predispor à infecção, cobaias inoculadas com bacilos de Stefansky. O regime mais carente deu resultados mais acentuados.

Yamamoto (101) fez um estudo sobre as alterações pulmonares dos camundongos, ratos brancos e galinhas inoculados com lepra humana ou murina.

Sellards e Pinkerton (81) afirmam que a inoculação intracerebral em macacos (Rhesus), coelhos, ratos brancos e camundongos brancos produz lesões progressivas. Em cobaia, tal fato não se dá.

Chabaud (12) infectou camundongos com lepra murina. Verificou que a virulência aumenta com o número de passagens e que varia com a amostra usada.

Vamos agora estudar com mais detalhes a infecção experimental nas gambás, nos pintos e nos pombos.

a) *Infeção de gambá (Didelphis aurita) com lepra murina*

Em 1931, Boyé (9) capturou em Caiena uma gambá (*Philander cancrivora*?) que estava muito caquética e apresentava placas de alopecia disseminadas pelo corpo. No membro posterior esquerdo havia infiltração dérmica, amputação de falanges e o coto subexistente apresentava o aspecto globoso característico das amputações espontâneas da lepra humana. A autópsia mostrou hipertrofia dos gânglios mesentéricos. O exame microscópico revelou a presença de bacilos ácido álcool resistentes em um gânglio inguinal, assim como na serosidade cutânea. Os bacilos estavam, em geral, isolados; eram delgados e ligeiramente curvos, às vezes muito curtos podendo aparecer aos pares ou mais raramente em globias de quatro a oito elementos.

Jordan (29), em 1934, inoculou gambás (opossums) por via intracutânea, com material de lepra humana, mas não encontrou modificações visíveis ou palpáveis. Por outro lado, autopsiou 25 animais não inoculados, fez esfregaços dos órgãos e corou pelo Ziehl-Neelsen sendo os resultados sempre negativos. Também não encontrou bacilos em 50 pulgas provenientes destes animais.

Em 1935, Aragão e Penido (2) inocularam 55 gambás (*Didelphis aurita*) jovens e adulto, principalmente por via subcutânea, mas também usaram a via intraperitoneal, pleural e óssea. Trabalharam com material de lepra humana. Concluíram que as gambás não apresentam nenhuma suscetibilidade particular para a lepra humana, podendo entretanto haver uma longa sobrevivência dos bacilos nos pontos inoculados ou muito próximo deles.

Em prosseguimento aos estudos que vimos fazendo sobre a lepra murina, resolvemos também fazer algumas pesquisas em gambás, da espécie *Didelphis aurita*.

Inicialmente colhemos fezes de 22 gambás aparentemente normais, fizemos um processo de enriquecimento e pesquisamos bacilos ácido álcool resistentes. Os resultados foram negativos. Para maior confirmação sacrificamos 10 animais e colhemos os gânglios linfáticos superficiais e os órgãos internos. Foram feitos esfregaços de todo este material e corados pelo Ziehl-Neelsen, não tendo sido evidenciados bacilos.

Um lote de seis animais adultos foi inoculado na região inguinal esquerda com suspensão de leproma de rato, muito rico em bacilos. Cada animal recebeu 2 c.c. Quatro deles morreram nos primeiros dias após a inoculação, sendo desprezados. Os dois restantes morreram três meses depois.

Um deles apresentou no gânglio inguinal esquerdo bacilos ácido álcool resistentes. Tentativas de cultura com este material em quatro tubos com meio de Löwenstein, foram infrutíferas.

A outra gambá apresentava hipertrofia do gânglio inguinal esquerdo e numerosos microabcessos no pulmão. Esfregaços dos órgãos corados pelo Ziehl-Neelsen mostraram bacilos ácido álcool resistentes em número relativamente grande no pulmão, fígado e gânglio inguinal esquerdo; no baço e no gânglio inguinal direito foram observados poucos bacilos.

Como o pulmão fôsse o órgão mais rico, cortámos um pedaço, triturámos em gral e fizemos semeadura em 12 tubos com meio de Löwenstein; não conseguimos obter cultura.

Outrossim, foi feito exame histopatológico do pulmão pelo Dr. Magarinos Torres que nos enviou o seguinte resultado:

“O granuloma da lepra murina, formado por células mononucleadas de grandes dimensões, com o citoplasma finamente vacuolado, infiltra o folheto parietal da pleura, invadindo, em pequena extensão, o parênquima pulmonar subjacente”.

Êsses resultados, obtidos em animal inoculado há apenas três meses, sugerem que talvez as gambás sejam mais suscetíveis à lepra dos ratos do que à lepra humana.

b) Infecção de pintos e pombos com lepra murina

Ultimamente, as galinhas e principalmente frangos e pintos tem sido objeto de reiterados estudos com lepra humana e dos ratos.

Sato (77) inoculou galinhas na crista e no músculo do peito e observou a formação de nódulos, mais ou menos nítidos, na crista. Eles aumentaram de tamanho até o terceiro mês, começando então a regredir. O tecido granulomatoso era formado por células epitelióides, vacuoladas ou não, havendo ainda células gigante e numerosos bacilos. Com exceção da necrose na parte central, a estrutura do granuloma foi quase idêntica à da lepra murina espontânea. Verificou ainda endoflebites e bacilos em alguns órgãos internos. Mesmo após duas passagens ainda ocorreu formação de nódulos, principalmente na crista. Concluiu que a galinha é muito sensível à lepra dos ratos; há formação de nódulos, os quais contêm bacilos vivos por muito tempo, porém o processo parece que não progride e, em raros casos, êle pensa ser possível a distribuição hematogênica dos bacilos.

Ota e Sato (71, 72, 73, 74) em pesquisas minuciosas obtiveram resultados interessantes. Inocularam frangos com emulsão de nódulos subcutâneos e

também de fígado e baço de ratos com lepra murina. Cada animal foi inoculado duas ou três vezes e sacrificado seis a oito meses após a primeira injeção. No local da inoculação, isto é, no peito, foram encontrados concreções amarelas, circunscritas, nas quais existiam numerosíssimos bacilos. O tecido de granulação era composto de células epitelióides e grandes células leprosas cheias de bacilos. Nos órgãos internos também foram observadas lesões. Acham que as galinhas são animais suscetíveis à lepra humana e murina.

Ota (70) inoculou mais de 100 galinhas e frangos na região peitoral e encontrou granulomas que apareceram três meses depois e persistiram por seis a 12 meses.

Sato e Nakano (78) observaram que galinhas postas em carência vitamínica, apresentam lesões no peritônio e mesentério, após inoculação com lepra humana e murina, consistindo histologicamente de linfocitos, polimorfonucleares macrófagos e eosinófilos. Essas lesões mostravam nítidas tendências à necrose, porém não eram encontrados bacilos nelas.

Nonaka (66, 67) fez uma série de experiências em galinhas com bacilos da lepra humana e do rato e também com bacilos ácido álcool resistentes não patogênicos. A inoculação de tumor do rato produziu nítida granulação leprosa em todos os animais, mas raras vezes as vísceras foram atingidas. Na segunda geração as alterações produzidas foram mais fracas e não houve infecção visceral. Inoculou emulsão previamente aquecida e verificou no local algumas leves alterações que desapareceram rapidamente. As lesões locais produzidas com material de lepra murina foram mais difusas que com o material humano.

Watanabe e Nonaka (95, 96) fizeram inoculação em frangos usando material humano e de rato. Verificaram que inoculações repetidas de emulsão de tecido de lepra murina, no músculo do peito, produzem granuloma leproso no local da inoculação. Não observaram modificações macroscópicas ou microscópicas nas vísceras, mas encontraram ocasionalmente no local da inoculação nódulos semelhantes aos produzidos por inoculação de lepra humana. Com este material observaram não só granuloma local, como também nódulos miliares especialmente no fígado.

Há ainda um trabalho escrito em japonês de Hayashi e Nagai (26) sobre a inoculação de material humano e de rato em frangos.

Vamos agora descrever as experiências e os resultados por nos obtidos após inoculação de lepra murina em pintos e em pombos.

Material e métodos:

Animais : os pintos por nós usados pertenciam à raça Leghorn; a idade era de dois dias para sete deles, de 15 dias para seis e apenas um com trinta dias. Os pintos de 15 dias haviam sido postos em regime carencial, cerca de cinco dias antes de serem inoculados. Quanto aos pombos, em número de cinco, eram também jovens, com cerca de 30 dias de idade.

Material inoculado: usamos emulsão de leproma de rato, recentemente extirpado, triturado em gral e feita a suspensão em soro fisiológico.

Métodos de inoculação: foram feitas inoculações em pintos, no músculo do peito, por via intraperitoneal, via gástrica e por instilação na córnea. Os pombos receberam suspensão por via venosa e no músculo do peito.

A dose usada dependeu não só da idade do animal, como também da via utilizada. Assim, os pintos de dois dias inoculados no músculo do peito, receberam 0,2 c.c. de emulsão do tumor. Os pintos que sofreram instilação na córnea receberam 0,06 c.c. Todos os demais, incluídos os de dois dias, nos quais usamos a via gástrica, receberam 1 c.c. do material. Também os pombos, por qualquer das vias usadas, foram inoculados com 1 c.c. Dentre esses animais, alguns foram reinoculados uma ou mesmo duas vezes, sempre com emulsão de leproma recém preparado e pela mesma via anteriormente usada.

Quanto à inoculação por via gástrica, procedemos do seguinte modo: foram feitas sondas finas, de vidro e ligadas a seringas comuns. Os pintos foram anestesiados com éter e a sonda introduzida com facilidade. A possibilidade de traumatismo não pode ser completamente afastada, mas todos os cuidados foram tomados para evitá-lo.

Parte experimental:

A maioria dos animais morreu dentro do intervalo de um mês, por causas diversas. Assim, os animais em regime carente em vitamina B1, morreram com o quadro típico da doença de Eijkman. Nós tivemos a intenção de verificar se nestes animais doentes, com o organismo debilitado, haveria maior possibilidade de invasão por parte do germe inoculado. Os animais que sobreviveram a este período foram mais tarde sacrificados.

Os pintos que morreram ou foram sacrificados, não mostraram, ao exame macroscópico, lesões que pudessem ser imputadas à infecção leprosa. Foi feito exame microscópico dos órgãos de todos os animais. Com o material colhido foi feito imediatamente após a autópsia esfregaço e corado pelo método de Ziehl-Neelsen.

Os animais inoculados no peito, quer com alimentação normal quer em regime carencial, num total de sete, que morreram entre o 5.º e o 22.º dia post-inoculação, mostraram bacilos, não só no local, como também no baço, fígado e mais raramente nos pulmões. Tais microorganismo nunca se encontravam em grande número; em geral viam-se raros bacilos isolados (quadro n. 2). Um outro frango, inoculado três vezes e sacrificado 81 dias após a primeira injeção mostrou, nos esfregaços, bacilos no músculo do peito, no fígado e no baço.

QUADRO N. 2
PESQUISAS DE BACILOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES
EM PINTOS INOCULADOS NO MÚSCULO DO PEITO

NÚMERO DO ANIMAL	DOSE INOCULADA	IDADE	TEMPO DE INOCULAÇÃO	PESQUIZA DE BACILOS				
				Pulmão	Fígado	Baço	Rim	Peito
1.....	0,2 cc	2 dias	15 dias	+	+	+	—	+
2.....	0,2 cc	2 dias	7 dias	—	—	+	—	+
3.....	0,2 cc	2 dias	25 dias	—	+	+	—	+
4.....	0,2 cc	2 dias	22 dias	—	+	+	—	+
6(1).....	3 cc	30 dias	81 dias	—	+	+	—	++
14.....	1 cc	15 dias	5 dias	+	+	++	—	+
15.....	1 cc	15 dias	13 dias	—	—	—	—	—
16.....	1 cc	15 dias	21 dias	—	+	+	—	+

1) Reinoculado com 1 cc. em intervalo de 30 dias.
Pintos 14, 15 e 16 com avitaminose.

Dois pintos, com dois dias de idade, que sofreram instilação do material leproso na córnea e foram sacrificados respectivamente 25 e 54 dias depois, deram resultados negativos.

Três pintos receberam emulsão de virus por via gástrica, dois dos quais foram reinoculados. Obtivemos dois resultados negativos e um positivo. Tal fato vem demonstrar que também é possível infetar pintos por via gástrica (quadro n. 3).

Por fim, os resultados obtidos em três animais com regime carencial inoculados por via intraperitoneal, demonstram que dêste modo também se processa a infecção.

Como a grande maioria dos pintos inoculados morreu poucos dias após a infecção, é de supor que os bacilos encontrados nos diversos órgãos sejam transportados por via sanguínea.

QUADRO N. 3

PESQUISA DE BACIOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES EM PINTOS
INOCULADOS POR VIA GÁSTRICA E INTRAPERITONEAL

NÚMERO DO ANIMAL	DOSE INOCULADA	VIA	IDADE	TEMPO DE INOCULAÇÃO	PESQUISA DE BACIOS			
					Pulmão	Fígado	Baço	Rim
8(*)	5 cc.	gástrica	2 dias	83 dias	+	++	++	—
9(*)	3 cc.	gástrica	2 dias	83 dias	—	—	—	—
10	1 cc.	gástrica	2 dias	23 dias	—	—	—	—
11	1 cc.	i. p.	15 dias	10 dias	—	+	+	—
12	1 cc.	i. p.	15 dias	10 dias	—	+	++	—
13	1 cc.	i. p.	15 dias	21 dias	—	+	+	—

*) Pintos inoculados três vezes com intervalo de 30 dias.
Pintos 11, 12 e 13 avitaminose.

Com pombos obtivemos resultados semelhantes. Foi porém possível observá-los por mais tempo e, pelo menos em dois inoculados no peito, tivemos a impressão de que havia um processo infeccioso em progressão. Ambos os animais tinham sido inoculados três vezes com 1 c.c. de suspensão de lepro-ma recém-preparada. Estavam muito magros e um deles, o número 17, apresentava um abcesso supurado no local da inoculação, existindo aí numerosos bacilos ácido álcool resistentes (quadro n. 4).

Os animais infectados por via venosa morreram dias após a inoculação e a presença de bacilos nos órgãos internos talvez não tenha grande significação.

QUADRO N. 4

PESQUISA DE BACIOS ÁCIDO ÁLCOOL RESISTENTES EM POMBOS
INOCULADOS NO MÚSCULOS DO PEITO E POR VIA VENOSA

NÚMERO DO ANIMAL	DOSE INOCULADA	VIA	TEMPO DE DE CÃO	PESQUISA DE BACIOS				
				Pulmão	Fígado	Baço	Rim	Peito
12	1 cc.	peito	10 dias	—	+	+	—	+
13(*)	3 cc.	peito	123 dias	—	++	++	—	++
17(*)	3 cc.	peito	112 dias	+	+	++	+	+++
18(*)	3 cc.	peito	123 dias	—	—	—	—	—
14	1 cc.	venosa	7 dias	+	++	++	+	—
19	1 cc.	venosa	30 dias	—	++	++	—	—

*) Pombos inoculados três vezes com intervalo de 30 dias.

De qualquer modo, tanto os pintos como os pombos jovens, talvez se prestem para experiências com material de lepra murina e humana. Como a idade do animal muitas vezes tem influência sôbre a suscetibilidade, será interessante trabalhar com animais jovens e adultos afim de fazer um estudo comparativo.

DISCUSSÃO

Pela revisão feita sôbre as vias de infecção dos ratos, verificamos que são múltiplos os modos de contaminação por processos naturais e artificiais.

Na natureza, dois nos parecem ser os modos mais prováveis de infecção. O primeiro, como na lepra humana, pelo contacto íntimo e prolongado com animal leproso. Junta-se a isso o fato de escoriações frequentes nos ratos, muitas vezes produzidas por lutas, tão comuns entre os roedores. As soluções de continuidade viriam tornar possível a penetração dos bacilos. É verdade que a fôrma músculo cutânea da doença de Stefansky é muito mais rara que a fôrma ganglionar e nesta última a transmissão da infecção deve ser mais difícil. Entretanto, o número de ratos leproso é geralmente muito pequeno em relação ao total de examinados. Tal fato vem demonstrar que a transmissão é difícil; provavelmente para o caso do contacto direto, só a forma músculo cutânea é contagiante, ao passo que a modalidade ganglionar é uma forma fechada de pouco perigo para os outros ratos.

Um segundo processo de transmissão se daria por via gástrica. Ratos esfomeados devoram muitas vezes os que morreram, podendo assim contaminar-se. A transmissão por mordeduras nos parece pouco provável. As glândulas salivares em geral não são atingidas (39), quando tal fato se dá, observam-se células isoladas contendo bacilos no tecido conjuntivo interlobular, mas nunca são encontrados bacilos nas células glandulares. Esses casos, porém, são os muito adiantados em que há grande enfartamento dos gânglios maxilares ou tumores de lepra murina na região do pescoço. Pela raridade do processo, pelo estado muito adiantado da infecção e ainda mais, por não ter sido provada a presença de bacilos na saliva, a transmissão por mordidas não nos parece provável. É possível, porém, que um rato sadio mordendo um outro infectado numa região muito atingida venha a se infectar através da mucosa bucal.

A transmissão por artrópodos é uma questão aberta. Tem-se admitido muito e provado pouco. É preciso ter sempre em mente que a presença de bacilos dentro destes animais não tem significado algum como demonstração de seu poder transmissor. Em várias doenças, tanto de virus como de bactérias, tem sido encontrados bacilos ou virus dentro do corpo de vários artró-

podem que, no entanto, não transmitem a infecção. Como simples transportador de microorganismos nas partes externas, como patas e probóscida, podem ocasionalmente depositar os bacilos sobre um rato normal com uma solução de continuidade e assim infectá-los; este fato se pode dar, porém é sem grande interesse do ponto de vista da transmissão pois Marchoux (46) verificou que os bacilos morrem rapidamente por dissecação. Seria um processo puramente acidental sem maior significado. Ademais, a hipótese da transmissão da lepra murina por um artrópodo picador, que levasse os bacilos de um para outro animal é logicamente muito pouco provável, principalmente se se pensasse em um inseto que fosse provido de asas. Aí, ao invés de existirem apenas casos esporádicos da doença, haveria epizootias maciças, coisa que jamais foi observada em parte alguma do mundo. As experiências mostram que os parasitos mais frequentes dos ratos, isto é, sarcoptes, pulgas, piolhos e ácaros, quando capturados em animais doentes e colocados em outros sadios, são incapazes de transmitir a infecção. Esses artrópodos, que às vezes contêm muitos bacilos, podem ser devorados pelos ratos sadios produzindo infecção, o que seria porém um processo muito raro. Naturalmente, tem sido conseguida a infecção após trituração de artrópodos colhidos em animais doentes e inoculados em ratos sadios. Isto prova apenas a presença de bacilos vivos, mas não tem significado algum se se quer provar a transmissão.

A transmissão congênita parece-nos muito pouco provável. O que se pode dar é os filhos de ratos com ulcerações leprosas virem a se contaminar quer através da pele, com alguma escarificação, quer através das mucosas como a conjuntiva, a mucosa bucal ou talvez mesmo pela mucosa nasal.

Por inoculação de material leproso é fácil a produção de infecção experimental. A via subcutânea é usada com mais freqüência. Em nossas experiências temos empregado quase que exclusivamente esta via, fazendo inoculações na região axilar. Os resultados mostram porcentagem muito elevada de infecção não só para o material proveniente de Londres, como também para o material de lepra murina oriundo de ratos capturados na cidade do Rio de Janeiro (38). Mais de cem ratos já foram infectados com este material, o qual se tem mostrado, seja pelas alterações macroscópicas produzidas, seja pelas lesões histopatológicas observadas, idênticas ao das outras partes do mundo (39).

As inoculações por via intraperitoneal também tem sido usadas com freqüência e os resultados obtidos são semelhantes aos da via subcutânea.

Tôdas as demais vias são muito menos empregadas, mas se tem conseguido infecção por qualquer uma delas.

Essa questão de via de inoculação talvez tenha maior importância para os animais pouco suscetíveis.

Provavelmente, tãda a família *Murinae*, ou dos ratos propriamente ditos, apresenta suscetibilidade à lepra murina em maior ou menor grau, conforme o gênero ou quiçá a espécie. Os ratos não apresentam de igual modo sensibilidade à infecção; de todos, o *Rattus norvegicus* é o mais suscetível. A infecção em gambá com lepra murina foi obtida por nós. Provavelmente as gambás são mais suscetíveis à lepra dos ratos que à lepra humana. Aliás nós mesmo inoculámos gambás com emulsão de leproma do homem, riquíssimo em bacilos ácido álcool resistente e os resultados obtidos foram completamente negativos.

Em galinhas, frangos, pintos e pombos, se bem que a infecção possa se dar, as lesões nunca são tão extensas, tão disseminadas e tão numerosas como nos ratos. Pensamos que talvez a idade e os regimes alimentares tenham influência sôbre a expansão da infecção.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

- 1) O A. revê as vias de infecção naturais e os processos de inoculações empregados em ratos, no estudo da lepra murina.
- 2) Na natureza, o contacto prolongado de animal sadio com doente e a infecção por via gástrica devem ser os modos comuns de contaminação.
- 3) Foram encontrados dentro do *Polyplax spinulosa* (Burmeister) capturados em ratos leprosos, bacilos ácido álcool resistentes. Tentativas de cultura com êste material, foram infrutíferas.
- 4) O A. infectou ratos colocando no estômago, por meio de sondas de vidro, material leproso. Em cinco animais, todos se infectaram.
- 5) Por via subcutânea e por via intraperitoneal, a infecção se processa em quase 100 % dos casos.
- 6) Foi possível infectar gambás (*Didelphis aurita*) com lepra murina. Êsses animais provavelmente são mais suscetíveis à lepra dos ratos que à humana.
- 7) Conseguiu-se infectar pintos por inoculação de emulsão de lepra murina no músculo do peito, por via intraperitoneal e por via gástrica.
- 8) Pombos também se infectaram após inoculação no músculo do peito e por via venosa.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

- 1) The A. reviews the routes of natural transmission of rat leprosy and the experimentally induced disease.

- 2) The infection in the natural disease must be made by contact with an infected rat or through the gastro-intestinal route by eating infected tissue.
- 3) They were found acid-fast bacilli in lice (*Polyplax spinulosa*) caught on rats dying of leprosy; but it was impossible to obtain cultures in Löwenstein medium, from these lice.
- 4) Rat leprosy emulsion introduced into the stomach, may infect rats. Five rats fed with infected material became infected.
- 5) After subcutaneous or intraperitoneal inoculation there were obtained infection in almost 100 % of cases.
- 6) It was possible to infect *Didelphis aurita* after inoculation of infected rat material. These animals most likely are more susceptible to rat leprosy than to human leprosy.
- 7) It was possible to infect chicks by inoculation in chest muscle, by intraperitoneal injection and by gastrointestinal route.
- 8) It was possible to infect pigeon by inoculation in chest muscle and by intravenous inoculation.

BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDRESCU, J.
1908. Lepra Sobolanilor-Tese de Jasi.
2. ARAGÃO, H. B. E PENIDO, J. C.
1935. Tentativas de inoculação da lepra humana em didelphídeos. *Brasil Médico*, 49: 267.
3. BADGER, L. F. E SEBRELL, W. H.
1935. The effect of a vitamina B1 deficient diet on the incubation period of the rat. *Pub. Health Rep.*, 50 : 855.
4. BALFOUR-JONES, S. E. B.
1937. The experimental transmission of rat leprosy to the golden Hamster (*Cricetus auratus*). *Jr. Path. and Bact.*, 45 : 739.
5. BERNARD, P.
1934. Localisation des bacilles de Stefanky injectés dans le veine du rat. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 27 : 117.
6. BERNY, P.
1934. Echec de la transmission aux lapins et aux cobayes des bacilles de la lèpre des rats. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 27 : 717.

7. BERNY, P.
1935. Conservation de la vitalité du bacille de Stefansky chez le cobaye. Bull. Soc. Path. Exot., 28 : 5.
8. BERNY, P. E TANGUY, Y.
1938. Conservation de la vitalité du bacille de Stefansky chez le cobaye. Bull. Soc. Path. Exot., 31 : 40.
9. BOYÉ.
1931. Sur une maladie de la sirigue de Guyanne presentant de grandes analogies avec la lèpre humaine. Bull. Soc. Path. Exot., 24 : 637.
10. BURNET, E.
1938. Examen de quelques reactions d'immunité et d'allergie dans la lèpre murine. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 27 : 360.
11. BURNET, E.
1940. Essais d'inoculation des bacilles lepreux, b. de Stefansky, b. de Hansen, sur le pulmon par l'instillation dans les narines. Arch. Inst. Pasteur de Tunis, 29 : 174.
12. CHABAUD, A.
1939. Evolution sur le souris de quatre souches de lèpre du rat. Bull. Soc. Path. Exot., 32 : 195.
13. CHAUCHARD, B. e CHORINE, V.
1936. Modifications de l'excitabilité nerveuse dans da lèpre des rats. Bull. Acad. Med. Paris, 115 : 954.
14. CHORINE, V. e BERNY, P.
1937. Infection genitale des rats avec bacille de Stefansky. Internat. Jr. Leprosy, 5 : 309.
15. CHORINE, V., GUILLINY, R. e MONTESTRUC, E.
1934. Inoculation de bacilles de Stefanky dans la chambre anterieure de l'oeil du rat. Compt. Rend. Soc. Biol., 116 : 1.261.
16. CURRIE, D. e HOLLMANN, H. T.
1910. A contribution to the study of rat leprosy. Pub. Health Bull. n. 41.
17. CURRIE, D. e HOLLMANN, H. T.
1911. Further observation in rat leprosy. Pub. Health Bull. n. 50.
18. DEAN, G.
1905. Further observation on a leprosy like disease of the rat. Jr. Hyg., 5 : 99.
19. DEMANDEZ, M. L.
1935. Recherches sur la lèpre murine et le bacille Duval 514. Ann. Soc. Belge de med. trop., 15 : 31.

20. FUKAMACHI, T.
1927. Application of rat leprosy to the study of therapy of human leprosy. Pathological and histological study of rat leprosy. *Nippon no Ikai*, 17 : 46.
21. GAVRILOV, W., DUBOIS, A. e FESTER.
1938. L'infection expérimentale du rat par le bacille de Stefansky observée en Belgique. *Inst. Jr. of. Leprosy*, 6 : 515.
22. GAVRILOV, W., DUBOIS, A. e FESTER.
1939. Influence de l'avitaminose sur l'infection des cobayes par le bacille de Stefansky. *Ann. Soc. Belge de Med. Trop.*, 19 : 361.
23. GRALL, A.
1937. Le blocage du système reticulo-endothelial dans la lèpre murine. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 30 : 636.
24. GUILLINY, R. e MONTESTRUC, E.
1933. Étude sur la lèpre oculaire murine. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 26 : 901.
25. HATTA, S.
1938. Experimental study on the heredity of leprous disposition by means of rat leprosy. *La Lepro*, 8 : 57.
26. HAYASHI, F. e NAGAI, T.
1940. Menschen-und Rattenlepraknoten, eingebracht in die Muskeln von Hühnern. *La Lepro*, 11 : 47.
27. HENDERSON, J. M.
1928. A contribution to the pathology of cutaneous rat leprosy. *Indian J. Med. Res.*, 16 : 1.
28. ICHIHARA, T.
1936. Rat-mites (*Laelaps nezumi kishida*, 1915) as the transmitter of rat leprosy. *La Lepro*, 7 : 33.
29. JORDAN, P.
1934. Notas preliminares sôbe o "Gambá" como animal de experiência para lepra. Pesquisa de bacilos ácido álcool resistentes nos animais sãos. *Folia Clínica et Biologica de S. Paulo*, 6 : 85.
30. KAWAMURA, M. e UCHIDA, M.
1933. Relation between the vaccinal quantity of the bacilli and its affections of the rat leprosy. *La Lepro*, 4 : 5.
31. LAIGRET, J.
1933. Reproduction de la lèpre murine chez de cobaye et chez de lapin traités par un extrait acétonique du bacille tuberculeux. *Compt. Rend. Acad. Sc.* 197 : 1.468.

32. LAMPE, P. H. J.
1936. Modder-lepra by witte ratten — "Handelingen v/h 7 de Ned. Ind. Natuurwetenschappelyk, Congress ; 389-393 (Atas do 7.º Congresso de Ciências naturais da Índia Holandesa) Impresso : Batávia 1936.
33. LAMPE, P. H. J. e LOBEL, L. W. M.
1938. Rattenlepra : Experimenteele contact en voedingsinfectie van witte ratten. Geneesk. tydschr. v. Nederl.-Indië, 78 : 179.
34. LAMPE, P. H. J. e MOOR, C. E. J.
1935. Rattenlepra. Geneesk, tydschr. v. Nederl.-Indië, 75 : 2.033.
35. LAMPE, P. H. J., MOOR, C. E. J. e VAN VEEN, A. G.
1936. Modderlepra van witte ratten. Geneesk. tydschr. v. Nederl.-Indië, 76 : 2.204.
36. LAMPE, P. H. J., MOOR, C. E. J. e VAN VEEN, A. C.
1936. Modderlepra. Geneesk. Tydschr. v. Nederl.-Indië, 78 : 523.
37. LE GUYON, R.
1931. Sur l'etiologie de la lèpre des rats. Allaitement croisé par des mère saine de jeunes rats issus des mère lepreuses et inversement. Compt. Rend. Soc. Biol., 108 : 792.
38. LINHARES, H.
1942. Verificação da lepra murina na cidade do Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 (3) : 353.
39. LINHARES, H.
1942. Contribuição ao estudo da patologia da lepra murina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 (4) : 543.
40. LOWE, J.
1934. Studies in rat leprosy. Indian Jr. Med. Res., 22 : 187.
41. LOWE, J.
1937. Rat leprosy. Internat. Jr. of Leprosy, 5 : 311.
42. LYON, M.
1939. Le rat ne réagit pas a la leproline de Mitsuda. Bull. Soc. Path. Exot., 32 : 134.
43. MARCHOUX, E.
1911-12. Human leprosy and rat leprosy ; a discussion of their respective problems. Tr. Soc. Trop. Med. & Hyg. 5 : 184.
44. MARCHOUX, E.
1914. La lèpre des rats. La Presse Medicale, 22 : 201.

45. MARCHOUX, E.
1914. La prophylaxie de la lèpre. *Ann. d'Hyg. publ. et med. légale*, 21 : 142.
46. MARCHOUX, E.
1916. Transmission de la lèpre par les mouches (*Musca domestica*). *Ann. Inst. Pasteur*, 30 : 61.
47. MARCHOUX, E.
1923. La lèpre du rat et de l'homme. 3.^a Conf. Intern. de lepra, Strasburgo.
48. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1936. La sensibilité au virus lèpreux n'est pas plus grande chez les jeunes que chez les adultes. *Ann. Inst. Pasteur*, 57 : 583.
49. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1937. Infection des rats avec le bacille de Stefansky par la voie digestive. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 30 : 268.
50. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1938. Cinq bacilles de Stefansky suffisent pour infecter le rat blanc. *Ann. Inst. Pasteur*, 61 : 296.
51. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1938. La muqueuse rectale est perméable au bacille de Stefansky. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 : 462.
52. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1938. Permeabilité de la muqueuse buccale du rat au bacille de Stefansky. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 : 580.
53. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1938. Voies de pénétration des germes de la lèpre dans l'organisme. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 : 796.
54. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1938. Le phénomène de Koch ne se produit pas chez le rat par reinoculation du bacille de Stefansky. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 : 809.
55. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1939. Transmission de la lèpre par les poux et par le Iaelaps. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 32 : 477.
56. MARCHOUX, E. e CHORINE, V.
1939. Mode de pénétration des bacilles de Stefansky au travers de la peau fraîchement épilée. *Ann. Inst. Pasteur*, 63 : 101.
57. MARCHOUX, E. CHORINE, V. e KOEHLIN, D.
1935. Infection lèpreuse des rats par la voie oculaire. *Ann. Inst. Pasteur*, 55 : 632.

58. MARCHOUX, E. CHORINE, V. e KOECHLIN, D.
1937. Le bacille de la lèpre et le système nerveux. *Ann. Inst. Pasteur*, 59 : 549.
59. MARCHOUX, E. e SOREL, F.
1912. Lèpre des rats : Inoculation expérimentale. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 72 : 269.
60. MARCHOUX, E. e SOREL, F.
1912. Lè des rats : Recherches étiologiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 26 : 778.
61. MARKIANOS, J.
1929. Le rôle des poux dans la transmission de la lèpre. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 22 : 633.
62. MAZZA, S.
1924. Phagocitose des bacilles de Stefansky dans le peritoine des rats et des cobayes. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 17 : 208.
63. MC COY, G. W.
1908. Leprosy-like disease in Rats. *Pub. Health Rep.*, 23 : 982.
64. MUIR, E. e HENDERSON, J. M.
1928. Rat leprosy. *Indian Jr. Med. Res.*, 15 : 807.
65. NAKAMURA, K.
1938. Studien über die Pathogenese lepröser Ratten und ihrer Nachkommenschaft. *La Lepro*, 9 : 58.
66. NONAKA, N.
1939. Das Verhalten von Hühnern gegen Aufschwemmung von Menschen und Rattenlepragewebe sowie gegen nicht pathogene säurefeste Bacillen. *La Lepro*, 10 : 140.
67. NONAKA, N.
1940. Studies on the Infection of Chickens with leprosy. *Kitasato Arch. Exper. Med.*, 17 : 175.
68. OHTAWARA, T. e ICHIHARA, T.
1932. Studium der Lepra : Statistische Betrachtung der Rattenlepra. *Zentralbl. f. Bact. Origin*, 123 : 495.
69. OHTAWARA, T., ICHIARA, S. e SUZUKI, K.
1939. Verhalten der Rattenleprabazillen in Körper von Tieren die für diese Bacillen unempfindlich sind. *La Lepro*, 10 : 72.
70. OTA, M.
1939. Über Impfversuche der menschlichen und Rattenlepra auf Tiere. Haushühner und Vögel. *La Lepro*, 10 : 27.

71. OTA, M. e SATO, S.
1937. Impfversuche von menschlichen und Rattenlepra beim Huhn. *La Lepro*, 8 : 67.
72. OTA, M. e SATO, S.
1937. Impfversuche von menschlichen und Rattenlepramaterial an Hähner *Jap. Jr. Dermat. Urol.*, 42 : 135.
73. OTA, M. e SATO, S.
1940. Rattenlepramaterial intramuskulär inokulierten Hühnern. *Jap. Jr. Dermat. Urol.*, 47 : 41.
74. OTA, M. e SATO, S.
1940. Inoculation Experiments of Human and Rat Leprosy in the Hen. *Intern. Jr. Leprosy*, 8 : 81.
75. PAPAIOANNU, A.
1938. Recherches sur la culture et la transmission experimentale à des animaux de laboratoire, du bacille lepreux humain et du bacille de Stefansky. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 31 : 582.
76. SATO, M.
1937. Rattenlepra : Übertragung auf Tiere. *Jap. Jr. Dermat. Urol.*, 42 : 149.
77. SATO, M.
1938. Impfversuche der Rattenlepra auf Huhn. *La Lepro*, 9 : 56.
78. SATO, M. e NAKANO, J.
1939. Versuche mit Überimpfung von menschlicher und Rattenlepra auf Vögel. *La Lepro*, 10 : 1.
79. SCHLOSSBERGER, H. e KOCH, F.
1932. Experimentelle untersuchungen über die Übertragung der Rattenlepra auf Meerschweinchen und weisse Mäuse. *Srpski Arch. Lekarst.*, 34 : 364.
80. SELLARDS, A. W. e PINKERTON, H.
1936. Résumé d'experiences sur la propagation de la lèpre murine et humaine à des animaux considérés comme refractaires. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 29 : 847.
81. SELLARDS, A. W. e PINKERTON, H.
1938. Behavior of murine and human leprosy in foreign hosts. *Am. Jr. Path.*, 14 : 421.
82. SOUZA ARAUJO, H. C.
1938. A lepra dos ratos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 33 : 297.
83. STEFANSKY, W.
1903. Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten. *Centralb. f. Bakt.*, 33 : 481.

84. UCHIDA, M.
1922. Reports on the experimental rat leprosy. Saikingaku Zasshi, n. 323.
85. UCHIDA, M.
1923. On the route of infection of rat leprosy. Saikingaku Zasshi, n. 329.
86. UCHIDA, M.
1933. The experimental study on the relation between various nutriments and the leprosy affections. (I. Report.). La Lepro, 4 : 13.
87. UCHIDA, M.
1935. On the influence of various vitamins on morbid changes (II. Rep.) La Lepro, 6 : 7.
88. URABE, K.
1939. On the susceptibility on *Eutamia asiaticus orientalis* with *Mycobacterium leprae muris*. La Lepro 10 (Sup. 68).
89. WALKER, E. L.
1929. Some new aspects of the etiology and epidemiology of leprosy. Jr. Prev. Med., 3 : 167.
90. WALKER, E. L. e SWEENEY, M. A.
1929. The identity of human leprosy and rat leprosy. Jr. Prev. Med., 3 : 325.
91. WATANABE, Y.
1934. Experimental studies on the lepra bacillus. Inoculation test with the bacillus of rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 11 : 259.
92. WATANABE, Y.
1936. Experimental studies on animals concerning leprosy. Experiments on inheritance of predisposition for leprosy rat. Kitasato Arch. Exper. Med., 13 : 66.
93. WATANABE, Y.
1936. Experimental studies on animals concerning leprosy. Inoculation tests with rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 13 : 158.
94. WATANABE, Y.
1937. On the influence of inoculation with heated emulsion of rat leprosy tissue on the growth of rat leprosy. Kitasato Arch. Exper. Med., 14 : 125.
95. WATANABE, Y. e NONAKA, N.
1937. Experimental studies on chickens concerning leprosy. Tokyo Izi Sinsi, n. 3.042; e 1938 — Kitasato Arch. Exper. Med., 15 : 40.
96. WATANABE, Y. e NONAKA, N.
1939. Experimentelle Leprastudie mit den Huhn. La Lepro, 10 : 66.

-
97. WAYSON, N. E.
Citado por Lowe (41).
98. WAYSON, N. E. e MASUNAGA, E.
1935. Rat leprosy : Observations concerning transmission of the infection through the nose. Pub. Health Rep., 50 : 1.576.
99. WHERRY, W. B.
1908. Further notes on rat leprosy and on the fate of human and rat lepra bacilli in flies. Pub. Health Rep., 23 : 41 ; e 1908 — Jr. Infect. Dis., 5 : 507.
100. WHERRY, W. B.
1909. Experiments on the vaccination against rat leprosy. Rat lepra bacilli in the rat louse. Jr. Infect. Dis., 6 : 630.
101. YAMAMOTO, M.
1939. Über Lungenveränderungen bei Mäusen, weissen Ratten und Hühnern. La Lepro, 10 : 7.
-