Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Centenário do Instituto Oswaldo Cruz 1900-2000

José Rodrigues Coura
Luiz Fernando Ferreira
Wladimir Lobato Paraense

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Centenário do Instituto Oswaldo Cruz

1900-2000

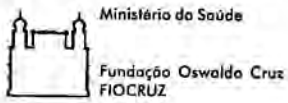
Organizadores

José Rodrigues Coura

Luiz Fernando Ferreira

Wladimir Lobato Paraense

Rio de Janeiro, 25 de maio de 2000



Ministério da Saúde
Ministro
José Serra

Fundação Oswaldo Cruz
Presidente
Eloi de Souza Garcia
Vice-Presidente de Pesquisa e Ensino
Renato Sérgio Balão Cordeiro
Vice-Presidente de Ambiente Comunicação e Informação
Maria Cecilia de Souza Minayo
Vice-Presidente de Serviços de Referência em Saúde
Mauro Célio de Almeida Marzochi
Vice-Presidente de Desenvolvimento Tecnológico
Akira Homma

Instituto Oswaldo Cruz
Diretor
José Rodrigues Coura

Organizadores
José Rodrigues Coura
Luiz Fernando Ferreira
Wladimir Lobato Paraense

Diagramação e Arte
Paulo Márcio Moreira
Copydesk e Revisão
Marly de Carvalho Willcox
Suporte Administrativo
Geiza Helena Ribeiro das Neves

Patrocinio
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes
Financiadora de Estudos e Projetos - Finep
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - Faperj
Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz
Linha Amarela S.A. - LAMSA
Ministério da Cultura
Prefeitura do Município do Rio de Janeiro

F981
Fundação Oswaldo Cruz

Centenário do Instituto Oswaldo Cruz : 1900-2000./ José Rodrigues Coura, Luiz Fernando Ferreira, Wladimir Lobato Paraense (orgs.). - Rio de Janeiro : Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2000.

720 p. ; il.

ISBN 85-87865-01-3

1. Fundação Oswaldo Cruz - História. 2. Medicina - História - Brasil.
I. Coura, José Rodrigues (org.). II. Título

CDD 610.981

ÍNDICE

PRIMEIRA PARTE

SEGUNDA PARTE
O Instituto Oswaldo Cruz - Ano 2000

PREFÁCIO

Este livro foi organizado para comemorar o ***Centenário do Instituto Oswaldo Cruz****. Criado em 25 de maio de 1900, com o nome de Instituto Soroterápico Federal, logo popularizou-se como "Instituto de Manguinhos", nome da fazenda onde se instalou, naquela data, por sugestão do Barão de Pedro Afonso ao prefeito Cesário Alvim do então Distrito Federal.*

O livro foi organizado em duas partes, a primeira é composta de uma introdução sobre Oswaldo Cruz, redigida pelo atual diretor do Instituto, José Rodrigues Coura, e de artigos, em fac-simile*: um sobre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz, por Henrique Aragão, e outro sobre a Escola de Manguinhos, por Olympio da Fonseca Filho, e finalmente de trabalhos destacados, nas três primeiras décadas do Instituto de Manguinhos. A segunda parte do livro, intitulada "O Instituto Oswaldo Cruz Ano 2000", é representada pela organização atual do Instituto, seu corpo de pesquisadores, um breve histórico de seus 15 departamentos e 64 grupos de pesquisa, organizados em "laboratórios", suas linhas de pesquisa e perspectivas, bem como pelo Departamento de Ensino e pelas* Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

O Instituto Oswaldo Cruz, cujo nome foi dado em homenagem ao seu grande diretor, em plena função e independente de sua vontade, por Decreto do Poder Legislativo nº 1802, de 12 de dezembro de 1907, após a conquista pelo Brasil do primeiro lugar entre as 123 nações concorrentes à Exposição Internacional de Higiene, realizada em Berlim, em 1907, permaneceu como instituição autônoma até 22 de maio de 1970, quando foi criada a Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, pelo Decreto do Governo Militar nº 66.624, daquela data, permanecendo o Instituto como unidade de origem, porém com direção própria e atividades específicas de pesquisa, de ensino e de serviços de referência.

A partir de 1980, o Instituto foi reorganizado em departamentos, instalados os cursos de mestrado, de doutorado e de técnico de pesquisa, e foi recuperado o seu periódico, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, *a mais antiga e prestigiosa revista biomédica da América Latina.*

Parabéns à Fiocruz e à comunidade de Manguinhos por ter no ***Instituto Oswaldo Cruz Centenário*** *o seu mais antigo e completo instituto de pesquisa.*

Rio de Janeiro, 25 de maio de 2000

José Rodrigues Coura
Luiz Fernando Ferreira
Wladimir Lobato Paraense

PRIMEIRA PARTE

OSWALDO GONÇALVES CRUZ: UMA VIDA, UMA OBRA, UMA ESCOLA

O período entre a segunda metade do século XIX, quando nasceu Oswaldo Cruz (1872) e a Primeira Grande Guerra, quando faleceu (1917), foi um período de grandes transformações mundiais. Alguns acontecimentos como a revolução industrial, a era microbiana de Pasteur, a assepsia de Lister, o desenvolvimento dos soros e vacinas, a descoberta dos mosquitos como transmissores da malária e da febre amarela, a medicina, a cirurgia e a saúde pública certamente tiveram uma decisiva influência na vida, na formação e na grande obra do patrono da saúde pública brasileira, Oswaldo Cruz.

O Brasil, no final do século passado e no início deste, atravessava uma situação sanitária das mais graves, com epidemias de febre amarela, de varíola, de peste bubônica e de malária que dizimavam as nossas populações, impediam o nosso desenvolvimento econômico e o comércio com o exterior. As companhias de navegação proibiam que seus navios parassem no Rio de Janeiro, capital da República, por a considerarem um porto insalubre.

Oswaldo Gonçalves Cruz, filho do Dr. Bento Gonçalves Cruz e de Dona Amália Taborda de Bulhões Cruz, nasceu em 5 de agosto de 1872, na pequena e pacata vila de São Luís do Paraitinga, no estado de São Paulo, localizada na Serra do Mar, entre Taubaté e Ubatuba, no litoral, entreposto de passagem das caravanas com minérios, café e outros cereais para embarque no porto de Parati, com destino aos países da Europa e de outros continentes.

Bento Gonçalves Cruz, pai de Oswaldo, estudou medicina com grande dificuldade. Ainda como estudante foi pensionista do Exército em operações de guerra com o Paraguai. Pouco depois foi contratado como 2º cirurgião da Armada Nacional, posto no qual foi condecorado. Em 1870 Bento Cruz deu baixa da armada e em novembro desse mesmo ano defendeu a sua tese; após diplomado, foi clinicar em São Luís do Paraitinga. Aí instalado, volta ao Rio de Janeiro para casar-se com sua prima Amália Taborda de Bulhões, em 7 de outubro de 1871, com quem teve seis filhos; Oswaldo foi o primogênito e o único homem.

A casa onde nasceu Oswaldo Cruz (hoje Museu Oswaldo Cruz) fica na parte alta da cidade de São Luís do Paraitinga, na rua Oswaldo Cruz, próxima da praça central que também tem o seu nome. É uma construção simples, no estilo português, com uma porta central alta ladeada por duas grandes janelas à esquerda e quatro à direita. Oswaldo Cruz foi educado em um ambiente simples e harmonioso entre os pais e os filhos, mas com normas muito bem definidas, como ocorre nas famílias bem constituídas. Foi alfabetizado por sua própria mãe e aos cinco anos de idade já sabia ler e escrever.

Em 1877, quando Oswaldo Cruz tinha apenas cinco anos, o Dr. Bento Gonçalves Cruz transferiu-se com a família para o Rio de Janeiro, a fim de melhor educar os filhos. Instala-se no bairro do Jardim Botânico, onde trabalha como médico da Fábrica de Tecidos Corcovado e tem seu consultório particular. Em 1886 foi nomeado, pelo Imperador Pedro II, membro da Junta Central de Higiene Pública; em novembro de 1890 foi promovido a ajudante de inspetor geral de higiene e em janeiro de 1892 foi nomeado inspetor geral de higiene, vindo a falecer no cargo em 8 de novembro daquele ano, pouco antes de seu filho Oswaldo graduar-se em medicina.

No Rio de Janeiro, Oswaldo Cruz estudou, inicialmente, no Colégio Laure e em seguida no Colégio São Pedro de Alcântara, fazendo os "exames preparatórios" para a faculdade no Colégio (oficial) Pedro II. Ingressou na Faculdade de Medicina em 1889, com 16 anos de idade e fez todo o curso médico em quatro anos, graduando-se em 24 de dezembro de 1892, com apenas vinte anos de idade, defendendo a tese (obrigatória na época) intitulada *Veiculação Microbiana pela Água*. Durante o curso médico Oswaldo Cruz não foi o que se convencionava chamar "aluno brilhante"; embora muito estudioso e dedicado tinha dificuldade, devido à timidez, nos exames orais; passou despercebido pela maioria dos professores, exceto por Martins

Teixeira, professor de física, de quem foi "ajudante de preparador" (estagiário) e de Rocha Faria, com quem exerceu a mesma função no Laboratório de Bacteriologia da Cadeira de Higiene da Faculdade de Medicina e depois a de "auxiliar de laboratório", no Instituto de Higiene e Saúde Pública, onde desenvolveu a sua tese.

Na sua dissertação, depois da página de rosto (reproduzida neste livro em *fac-simile*) apresenta a comovente dedicatória: "A memória do meu idolatrado pai e melhor amigo o Dr. Bento Gonçalves Cruz", seguindo-se o prefácio que assim se inicia: "Desde o primeiro dia que nos foi facultado admirar o panorama encantador que se divisa quando se colloca os olhos na ocular d'um microscopio, sobre cuja platina está uma preparação; desde que vimos com auxilio d'este instrumento maravilhoso, os numerosos seres vivos que povoam uma gotta d'agua; desde que aprendemos a lidar, a manejar com o microscopio, enraizou-se em nosso espirito a idéa de que os nossos esforços intellectuaes d'ora em diante convergeriam para que nos instruissemos, nos especialisassemos n'uma sciencia que se apoiasse na microscopia".

Na introdução da tese faz um estudo científico dos diversos aparelhos existentes para colher água para exame bacteriológico e apresenta um novo aparelho desenhado e confeccionado por ele mesmo para esse fim. A tese foi dividida em três partes: "A água e os micróbios", uma extensa revisão sobre os estados físicos e químicos e sobre a contaminação das águas; "Profilaxia geral contra a infecção pelas águas", onde fala dos processos de purificação da água e faz um estudo crítico e comparativo dos primeiros filtros usados; na terceira e última parte "Exposição dos processos e técnicas", quando trata da colheita da água para exame e da contagem microbiana, descreve, minuciosamente, todos os processos, ilustrandos-o com experiências pessoais realizadas no Instituto de Higiene e Saúde Pública onde trabalhava. Ao terminar a tese, como era de praxe na época, faz três "proposições" para cada uma das 29 cadeiras que cursou na faculdade. É curioso que sobre a Primeira Cadeira de Clínica Médica, fala exatamente da doença que viria a matá-lo 24 anos depois: "a nefrite e sua repercussão sobre o coração".

Com o falecimento do pai, Oswaldo Cruz teve que assumir o encargo de uma família numerosa, passando a trabalhar como médico da Fábrica de Tecidos Corcovado, no lugar do pai, e no consultório particular. Em 5 de janeiro de 1893 casou-se com Dona Emília Fonseca, filha do Comendador Manoel José da Fonseca e de Dona Elisa da Cunha Fonseca, com quem teve os filhos Elisa, Bento, Hercília (nascida em Paris), Oswaldo, Zahra (falecida aos dois anos de idade) e Walther que veio a ser um dos grandes cientistas de Manguinhos.

Ainda como estudante, Oswaldo Cruz encontrou-se com Francisco de Castro, grande clínico e professor de medicina, "o divino mestre", que era médico de seu pai, e que observando as suas tendências para a pesquisa e para a saúde pública, o aconselhou a estudar no Instituto Pasteur de Paris. Irônica e dramaticamente Francisco de Castro veio a falecer de peste pulmonar, adquirida de um doente que examinou em outubro de 1901, durante a grande epidemia no início do século, quando Oswaldo Cruz a combatia. Outro encontro extremamente importante na vida de Oswaldo Cruz, e para o futuro da saúde pública brasileira, foi com o Dr. Egídio de Sales Guerra, famoso clínico no Rio de Janeiro, que foi chamado por Oswaldo, em agosto de 1894, para ver um doente em conferência médica e depois para tratar a sua própria filha Elisa. Ao descer para o escritório na casa de Oswaldo, para aviar a receita, o Dr. Sales Guerra deparou-se com um moderno laboratório de análises e pesquisa. Diante da surpresa Oswaldo explicou "foi presente do meu sogro, presente de casamento", certamente o que ele mais desejava. Desde então Sales Guerra e Oswaldo tornaram-se grandes amigos, sendo Oswaldo Cruz convidado para organizar e chefiar o laboratório da Policlínica Geral do Rio de Janeiro, onde Sales Guerra era chefe do serviço de medicina interna e Silva Araujo do de dermatossifilografia.

No início de 1896, Oswaldo Cruz decide aceitar o conselho do professor Francisco de Castro, e apoiado pelo sogro, homem inteligente e abastado, segue com a família para estudar em Paris, onde se instala à Rua Marbeuf 26, transversal à Avenida Champs Elisées, próximo à Faculdade de Medicina.

Em Paris, onde ficou até o penúltimo trimestre de 1899, freqüentou o Instituto Pasteur, sob a orientação do professor Emille Roux, e o Laboratório de Toxicologia, de Vilbert e Ogier. Paralelamente, fez um curso sobre doenças das vias urinárias com o famoso professor Guyon. Como primeiro brasileiro a estudar no Instituto Pasteur, foi dispensado de indenizar o material e os animais de experiência, como era de praxe, talvez até em homenagem ao nosso imperador Pedro II, Emérito daquele Instituto, para o qual contribuiu financeiramente, tendo inclusive o seu busto lá inaugurado. Ainda no Instituto Pasteur, Oswaldo Cruz fez amizade com o sábio russo Metchnikoff, que falava português, aprendido na Ilha da Madeira.

De volta ao Rio de Janeiro, no último trimestre de 1899, Oswaldo Cruz reassume o seu lugar de chefe do Laboratório da Policlínica Geral e instala o seu próprio laboratório de análises em um sobrado da antiga Travessa de São Francisco nº 10 (hoje Rua Ramalho Ortigão), ao lado dos consultórios dos Drs. Cândido de Andrade e Luiz Barbosa. Convidado por Francisco de Castro para ser seu assistente na Faculdade de Medicina, Oswaldo Cruz declina do convite por ter as manhãs ocupadas como médico da Fábrica de Tecidos Corcovado, a qual se dedicou pelo resto da vida.

Em fins de 1899 apareceram casos suspeitos de peste bubônica no porto de Santos, em São Paulo. Oswaldo Cruz foi designado pela Diretoria de Higiene para apurar a suspeita, confirmando-a e prevendo a possibilidade da invasão do Rio de Janeiro por essa nova doença que entrara recentemente no Brasil. Com essa perspectiva, o Barão de Pedro Afonso, diretor do Instituto Vacínico Municipal, consegue com o prefeito Cesário Alvim a fazenda de Manguinhos para instalar o Instituto Soroterápico Federal, nome pomposo mas que não tinha um técnico capaz de preparar as vacinas. Solicita ao Instituto Pasteur a indicação de um técnico e o professor Roux responde que esse técnico, formado recentemente pelo Instituto Pasteur, está no Brasil: é o Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz. Lembrando-se que tinha sido colega de turma do seu pai, o Barão de Pedro Afonso convida Oswaldo Cruz para diretor técnico do novo instituto que, na realidade, era apenas um laboratório para preparação do soro antipestoso. Oswaldo Cruz prepara uma lista com o material necessário, porém o Barão, que era um famoso cirurgião no Rio de Janeiro, com seu temperamento autoritário, manda cortar vários itens da lista. Oswaldo, sem dizer uma palavra, abandona o posto não assumido. Somente depois que o Barão autorizou a compra de todo o material e mandou chamá-lo, Oswaldo Cruz assumiu o seu posto em 23 de julho de 1900, e no final desse mesmo ano o soro e a vacina antipestosos eram empregados na terapêutica e profilaxia da peste e mais tarde comprovados pelos professores Roux, de Paris, e Kolle e Otto, de Berlim, como de excelente qualidade.

No final de 1902 explode uma crise de incompatibilidade entre o Barão de Pedro Afonso e Oswaldo Cruz. Ambos se demitem e dias depois volta Oswaldo Cruz como diretor único, aos trinta anos de idade. Estava livre o caminho para o desenvolvimento institucional.

A notícia da "nova escola" começa a circular entre a classe médica e estudantes de medicina; interessados em desenvolver as suas teses, começam a afluir para o Instituto, inicialmente convidados por Oswaldo Cruz, como é o caso de Ezequiel Dias, Figueiredo de Vasconcellos e Cardoso Fontes, os seus três primeiros jovens discípulos, e mais tarde, espontaneamente, outros entre os quais Carlos Chagas, Henrique Aragão, Alcides Godoy, Arthur Neiva, Gaspar Vianna, Henrique da Rocha Lima, Gomes de Faria, Aristides Marques da Cunha, Olympio da Fonseca Filho, Lauro Travassos e tantos outros que povoaram a ciência brasileira. Adolpho Lutz, veio mais tarde, já sendo um cientista consagrado em São Paulo. Oswaldo Cruz era um psicólogo nato, trabalhando muitas vezes mais de catorze horas por dia, tinha o dom mágico de despertar nos jovens a ânsia de aprender e a paixão pela pesquisa. As quartas-feiras fazia uma sessão de leitura de revista (cada um dos assistentes ficava encarregado de resumir um certo número de artigos para discussão), que começava as oito horas da noite e terminava muitas vezes pela madrugada. Sentindo a necessidade de reforçar o Instituto com pesquisadores mais experientes e diversificados trouxe, de São Paulo, Adolpho Lutz para implantar as bases da zoologia médica, entomologia e parasitologia e contratou na Alemanha os famosos cientistas S. Von Prowazek e Max Hartmann para a protozoologia, G. Giemsa para a bioquímica e Hermann Duerck para a anatomopatologia.

Em janeiro de 1903 o Dr. J. J. Seabra, ministro da Justiça e do Interior, onde o Departamento de Saúde era lotado, convidou Sales Guerra, seu médico particular, para assumir a direção do Departamento. Sales Guerra agradeceu a distinção por não ser especializado em saúde pública e depois de longa conversa sobre a erradicação da febre amarela em Cuba, notícia que tinha ouvido de Oswaldo Cruz, o indicou para o cargo. O ministro interrogou: – "Quem é Oswaldo Cruz?" e Sales Guerra respondeu: – "É o diretor do Instituto de Manguinhos, consumado bacteriologista, discípulo notável do Instituto Pasteur de Paris". Apresentado posteriormente ao ministro, Oswaldo Cruz expôs o seu plano de erradicação da febre amarela, que muito o impressionou. No despacho seguinte do ministro Seabra com o presidente da República, Rodrigues Alves, o nome de Oswaldo Cruz foi indicado para diretor de Saúde Pública. O presidente também estranhou o nome desconhecido e perguntou: – "Dr. Seabra, quem é esse Oswaldo Cruz?" a que o ministro respondeu: – "Sr. presidente, eu também não o conheço; um amigo em quem confio, apresentou-me como higienista consumado, capaz de extinguir a febre amarela, por um processo americano". O presidente, ainda hesitante, indagou ao seu filho, Oscar Rodrigues Alves, que terminava o curso médico, sobre o conceito de Oswaldo Cruz na

classe médica, obtendo as melhores referências. Nomeado diretor-geral de Saúde Pública por decreto de 23 de março de 1903, toma posse em 26 do mesmo mês e apresenta ao governo, em 1º de abril, o plano de reforma da saúde pública. No breve discurso de posse, Oswaldo Cruz afirma, ao terminá-lo, que sua meta era "trabalho e justiça" e ao apresentar o plano de saúde se compromete a controlar a febre amarela em três anos se lhe dessem "força e recursos".

A imprensa e o público receberam a nomeação de Oswaldo Cruz entre "surpreendidos e desapontados". Quase ninguém o conhecia. A classe médica e os "catedráticos", além de surpresos e decepcionados, se perguntavam porque esse Oswaldo Cruz para um cargo tão importante? Criou-se então um misto de descrença e ciúmes, principalmente quanto à teoria de Finlay, da transmissão da febre amarela pelo mosquito, comprovada em Cuba, por Walter Reed, e aplicada com grande convicção por Oswaldo Cruz para o controle da doença no Rio de Janeiro. Imediatamente após a posse, Oswaldo Cruz inicia, com auxílio do Dr. Carneiro de Mendonça, as medidas profiláticas contra a febre amarela e a peste bubônica, com fumigação das casas com vapores de enxofre, tratamento das telhas com querosene, ataque aos criadouros de mosquitos e desratização da cidade, ao mesmo tempo em que se empenhava na aprovação do Plano de Reforma da Saúde Pública, enviado pelo governo ao Congresso Nacional, em 15 de junho de 1903. Depois de duras discussões no Congresso o projeto foi aprovado pela Câmara, em 15 de dezembro daquele ano, e logo pelo Senado e a regulamentação da Lei publicada em março de 1904.

Nessa época crescia na imprensa uma grande oposição ao programa de Oswaldo Cruz, com caricaturas, modinhas, cançonetas e versos satíricos, editoriais, críticas científicas, sentenças e recursos judiciais, calúnias, ameaças e insultos. Nada abalava o ânimo de Oswaldo Cruz que a cada dia ampliava o seu programa e até colecionava as caricaturas e críticas publicadas na imprensa, tal a sua convicção nos resultados do programa. Em decorrência da vacinação obrigatória contra a varíola, eclodia, em 14 de novembro de 1904, uma rebelião armada dos cadetes da Escola Militar contra o presidente Rodrigues Alves, que foi sufocada três dias depois. O governo era atacado de todos os lados, na imprensa, no Congresso e nas ruas, mas resistiu, tal a confiança que depositou em Oswaldo Cruz.

As medidas começaram a dar resultados. De 984 casos de óbitos por febre amarela em 1902, caíram para 584 em 1903, 48 em 1906, quatro em 1908 e zero em 1909. Estava saneada a cidade do Rio de Janeiro. A peste desaparecera desde 1906 e a varíola reduzira-se não tanto, com recrudecimento em 1908, por não ter sido executada a lei de vacinação obrigatória, por falta de regulamentação. Por esse motivo Oswaldo Cruz pede demissão, o que não é aceito pelo presidente.

Após os primeiros resultados de sua campanha, Oswaldo Cruz decide ampliar as instalações de Manguinhos e estabelecer um marco da nova saúde pública brasileira. Inicia, em 1904, a construção do Castelo de Manguinhos. Ele mesmo fez o traço majestoso do prédio. Certa vez lhe perguntaram, abruptamente, quando admirava a sua obra, por que escolhera aquele estilo e ele simplesmente respondeu: "porque é mais bonito". Várias interpretações já foram tentadas para a escolha do estilo, mas nenhuma é totalmente satisfatória; não há documentos, nem Oswaldo Cruz, discreto e silencioso, jamais revelou o motivo da escolha. Provavelmente foi inspirado no Palácio do Alhambra, de Granada, na Espanha, da "cidadela vermelha" ou a cidade do governo, mandada construir por Muhammad al-Ahmar na colina de Sabika, afastada da cidade comercial. O Alhambra, como o Castelo de Manguinhos, tem uma arquitetura muçulmana mourisca, estilo hispano-árabe dos séculos IX a XIII, de mosaico e cerâmica, estuque esculpido e madeira trabalhada e encerada, com um pátio interno onde se distribuem em volta os edifícios. Até a colina, onde se localiza o nosso castelo, é semelhante à de Sabika. Certamente Oswaldo Cruz, com esse monumento, quis mostrar ao mundo a nova ordem da saúde pública brasileira.

Para completar a sua obra Oswaldo Cruz inaugura, em 1909, o Curso de Aplicação de Manguinhos, o primeiro curso de pós-graduação na área biomédica no Brasil, que povoou o país de pesquisadores e sanitaristas. No mesmo ano criou as *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, hoje uma das mais prestigiosas revistas internacionais na área biomédica, com mais de noventa anos de circulação.

Em 1907, o Brasil conquista o primeiro lugar entre 123 nações concorrentes à Exposição Internacional de Higiene, de Berlim. Este fato associado ao elevado nível científico do Instituto de Manguinhos, que passa oficialmente a chamar-se Instituto Oswaldo Cruz, às descobertas, principalmente a do ciclo exoeritrocitário dos alteridios de pombo, por Henrique Aragão, em 1906, da vacina contra o carbúnculo, por Rocha-Lima, Alcides Godoy e Gomes de Faria, em 1906/1908, e da doença de Chagas, por Carlos Chagas, em 1909,

fazem a glória da institutição e a imagem quase divina do seu criador, que recebe numerosas homenagens pessoais e reconhecimento internacional.

Apesar de toda a glória, Oswaldo Cruz não se deitou em "berço esplêndido". Já doente seguiu para a Amazônia, em janeiro de 1910, para supervisionar o plano de combate à malária, a fim de permitir a construção da estrada de ferro Madeira-Mamoré, depois continuado por Carlos Chagas. Supervisionou o controle da febre amarela em Belém e o saneamento de Manaus, viajando longos meses em um velho e desaparelhado navio, entre o Rio de Janeiro e aquela cidade, apesar de sofrer de enjôos marítimos. Oswaldo Cruz era um patriota e no dizer de Arthur Neiva "do Amazonas ao Rio Grande, o Brasil engastava-se no seu coração como um todo homogêneo, compacto e indissolúvel".

Apesar de não desejar, Oswaldo Cruz foi eleito para a Academia Brasileira de Letras, em 11 de maio de 1912, na qual foi recebido por Afrânio Peixoto, em 26 de junho de 1913, que no seu discurso disse a certa altura: "Vós sois como os grandes poetas que não fazem versos; nem sempre estes têm poesia e ela sobeja na vossa vida e na vossa obra".

Já muito doente, Oswaldo Cruz, por desejo de sua família e a conselho de amigos íntimos, se afasta da direção do Instituto, muito trabalhosa e, na época, permeada por alguns incidentes entre colegas, e assumiu a recém-criada prefeitura de Petrópolis, por indicação do presidente do estado do Rio de Janeiro, tomando posse no dia 17 de agosto de 1916, "na mais absoluta intimidade e sem a menor solenidade" como desejava. No dia seguinte, 18 de agosto, apresenta um ambicioso programa de administração, que incluia desde o saneamento básico, educação e saúde pública, ajardinamento e plano turístico, até a ligação com o Rio de Janeiro por bondes elétricos, e que jamais seria realizado devido ao seu estado de saúde, que progressivamente se agrava e ele entra em coma na manhã do dia 11 de fevereiro de 1917, vindo a falecer às 21 horas e 10 minutos, na presença do seu filho, o jovem médico Bento Cruz, e de íntimos amigos. Expira assim aquele que no dizer de Clementino Fraga "foi um momento singular na vida científica do Brasil", e segundo Carlos Chagas no seu último preito "levam-no, para honra de nossa época, os ecos de uma redenção profissional e as bênçãos de uma Pátria agradecida".

Oswaldo Cruz foi grande na vida e muito maior na morte; deixa em testamento as suas "últimas vontades" que aqui não são reproduzidas por limitação de espaço "um breviário de cultura, de higiene moral e de sinceridade", segundo Sales Guerra mas que foi muito bem sumariado no prefácio de sua *OPERA OMNIA* por seu filho Oswaldo na seguinte frase: "O que se diz dele e o que eu sei dele valem o maior dos julgamentos na sua forma mais pura e mais completa – Foi um Homem".

José Rodrigues Coura

Ano 1950

Tomo 48

COMEMORATIVO DO CINQÜENTENÁRIO DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1950
SERVIÇO GRÁFICO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
RIO DE JANEIRO

Corpo de Pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz

Diretor emérito:

HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ROHAN ARAGÃO
M.D., Professor do Instituto Oswaldo Cruz

Diretor:

OLYMPIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA
Dipl. I.O.C., M.D., Professor Catedrático da Faculdade Nacional de Medicina, Universidade do Brasil

Secretário:

CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO
Dipl. I.O.C., M.D.

Divisão de Microbiologia e Imunologia

Chefe da Divisão:

HERACLIDES CESAR DE SOUZA-ARAUJO
Dipl. Farm., Dipl. I.O.C., M.D., C.P.H., Dr. P.H., Professor Catedrático da Faculdade de Ciências Médicas

Secção de Bacteriologia

Chefe da Secção:

GENESIO PACHECO, M.D.
JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO, Médico, Dipl. I.O.C.
OSWALDO CRUZ FILHO, Médico, Dipl. I.O.C.
GOBERT DE ARAUJO COSTA, Médico, Dipl. I.O.C.
FRANCISCO DE PAULA DA ROCHA LAGÔA, Médico, Dipl. I.O.C.
MARIO FERREIRA DOS SANTOS, Médico, Dipl. I.O.C.
ARLETE UBATUBA, Médico — CLÉLIA DE PAIVA, Médico
ALVARO EMERY TRINDADE, Médico, Dipl. I.O.C.
MARIA DE LOURDES SANTOS, Dipl. Farm.
BRENILDO MEIRELES TAVARES, Estudante de Medicina
MARIO CESAR BUARQUE FRANCO NETTO, Estudante de Medicina
OSWALDO TARCISIO GODOY, Estudante de Química Industrial

Secção de Micologia

Chefe da Secção:

ANTONIO EUGÊNIO DE ARÊA LEÃO, Médico, Dipl. I.O.C.
ADOLFO DA ROCHA FURTADO, Médico, Dipl. I.O.C. — AMADEU CURY, Médico, Dipl. I.O.C.
MASAO GOTO, Médico, Dipl. I.O.C.

Divisão de Virus

Chefe da Divisão:

CÁSSIO MIRANDA
Dipl. I.O.C., M.D., Substituto eventual do Diretor
GETH JANSEN, Médico Veterinário, Dipl. I.O.C., Lic. Fac. Nac. Filosofia
LUIZ CARLOS ZAMITH, Médico
AMAURY LEITE DE CARVALHO E SILVA, Estudante de Medicina
JEAN MARC BODIN, Estudante
LUIZ DA FONSECA FERNANDES DA CUNHA, Estudante de Medicina

Secção de Virus

Chefe da Secção:

JOSÉ GUILHERME LACORTE, Dipl. I.O.C., M.D., Docente da Faculdade Nacional de Medicina

ESTÁCIO DE FIGUEIREDO MONTEIRO, Médico, Dipl. I.O.C.

Secção de Rickettsias

Chefe da Secção:

JOAQUIM TRAVASSOS DA ROSA, Médico

HELIO GELLI PEREIRA, Médico, Dipl. I.O.C.
JULIA VIDIGAL DE VASCONCELLOS, Dipl. Farm., Dipl. I.O.C.
LAURA MARIA TAVARES DE QUEIROGA, Quimico, Dipl. I.O.C.

Secção de Febre Amarela

Chefe da Secção:

HENRIQUE DE AZEVEDO PENNA, Médico, Dipl. I.O.C.

HUGO WIDMANN LAEMMERT JUNIOR, Médico, Dipl. I.O.C.
ANTÔNIO SOTERO CABRAL, Médico, Dipl. Farm.
MARY BARHYTE WADDELL, Médico
JOSÉ FRANCISCO DE MADUREIRA PARÁ, Médico, Dipl. I.O.C.
JOSÉ FONSECA DA CUNHA, Médico

Divisão de Zoologia Médica

Chefe da Divisão:

LAURO PEREIRA TRAVASSOS
Dipl. I.O.C., M.D., Professor Catedrático da Universidade Rural

Secção de Protozoologia

Chefe da Secção:

JULIO MUNIZ, Médico, Dipl. I.O.C.

WLADIMIR LOBATO PARAENSE, Médico — FIRMINO DE CASTRO, Médico
JAMES DE BRITO COSTA, Estudante de Medicina

Secção de Helmintologia

Chefe da Secção:

JOÃO FERREIRA TEIXEIRA DE FREITAS, Médico, Dipl. I.O.C.

HERMAN LENT, Médico, Dipl. I.O.C.
DOMINGOS ARTHUR MACHADO FILHO, Médico, Dipl. Veterinário, Dipl. I.O.C.
GEORGE AGOSTINHO DA SILVA, Dr. em Filologia, Dipl. Esc. Nor. Super., Prof. Cat. de Hist. e Filos. da Educ. da Faculdade Fluminense de Niterói
HUGO DE SOUZA LOPES, Dipl. Vet., Professor da Escola Nacional de Veterinária
SEBASTIÃO JOSÉ DE OLIVEIRA, Dipl. Veterinário
JAYADE MACHADO DE MENDONÇA, Estudante
ROBERTO MONTEIRO DA SILVA, Estudante de Medicina

Secção de Entomologia

Em disponibilidade:

ANGELO MOREIRA DA COSTA LIMA, M.D., Professor Catedrático da Universidade Rural

Chefe da Secção:

CESAR FERREIRA PINTO, M.D, Dipl. I.O.C.

FABIO LEONI WERNECK, M.D., Dipl. I.O.C.
OCTAVIO MANGABEIRA FILHO, Médico, Dipl. I.O.C. — INÁCIO DA COSTA LEITE, Médico
CHARLES RONALD HATHAWAY, Biologista-auxiliar
CARLOS ALBERTO DE CAMPOS SEABRA, Médico

Divisão de Fisiologia

Chefe da Divisão:

MIGUEL OZÓRIO DE ALMEIDA
M.D., Professor Catedrático da Universidade Rural

HAITY MOUSSATCHÉ, Médico, Diplo. I.O.C. — GESSY DUARTE VIEIRA, Médico, Dipl. I.O.C.
HELION PÓVOA FILHO, Estudante de Medicina

Secção de Fisiologia

Chefe da Secção:

ANTÔNIO AUGUSTO XAVIER, M.D., Dipl. I.O.C.

JOÃO CANALI CORREIA FILHO, Médico

Secção de Endocrinologia

Chefe da Secção:

THALES CESAR MARTINS, M.D., Dipl. I.O.C.

MARIO ULYSSES VIANNA DIAS, Médico, Dipl. I.O.C., Prof. Cat. da Esc. de Med. e Cirurgia
AUGUSTO JOSÉ LISBOA DE NIN FERREIRA, Médico, Dipl. I.O.C.
FERNANDO BRAGA UBATUBA, Médico, Dipl. I.O.C.

Divisão de Química e Farmacologia

Em disponibilidade:

JOSÉ CARNEIRO FELIPPE,
Engenheiro Civil e de Minas, Professor Catedrático da Escola Nacional de Química

Chefe da Divisão:

NICANOR BOTAFOGO GONÇALVES DA SILVA
M.D., Dipl. I.O.C.

HUMBERTO TEIXEIRA CARDOSO, Químico, Dipl. I.O.C.
CLOTILDE PACI, Químico, Dipl. I.O.C.
ISMÉLIA LYRIO ALVES ALMEIDA, Químico, Dipl. I.O.C.
DULCE DE BARROS FALCÃO, Químico, Dipl. I.O.C.
EDUARDO PENNA FRANCA, Químico, Dipl. I.O.C.
HERTA PAULA LASZLO, Químico

Secção de Química

Chefe da Secção:

GILBERTO GUIMARÃES VILLELA, M.D., Dipl. I.O.C.

GILBERTO DE FREITAS, Médico, Dipl. I.O.C.
ROBERTO LUIZ PIMENTA DE MELLO, M.D., Dipl. I.O.C.
MARIA ISABEL MELLO, Dipl. Farm.
PEDRO FONTANA JUNIOR, Químico, Dipl. I.O.C.

Secção de Ensaios Biológicos e Contrôle

Chefe da Secção:

OSWALDO LAZZARINI PECKOLT, Dipl. Farm.

JOSÉ MANOEL METELLO NETO, Médico
ALCINDO PINTO DE FIGUEIREDO, Dipl. Farm., Dipl. I.O.C.
AUGUSTO CID DE MELO PERISSÉ, Dipl. Farm., Dipl. I.O.C.
MOACYR VAZ DE ANDRADE, Químico
RUBEM DO NASCIMENTO, Dipl. Farm., Dipl. I.O.C.

Secção de Farmacodinâmica e Quimioterapia

Chefe da Secção:

OSCAR D'UTRA E SILVA, M.D., Dipl. I.O.C.

MIREILLE CARNEIRO FELIPPE DOS SANTOS, Químico, Dipl. I.O.C.
JOSÉ JOAQUIM RODRIGUES DE BASTOS, Médico, Dipl. I.O.C.

Divisão de Patologia

Chefe da Divisão:

CARLOS BASTOS MAGARINOS TORRES
M.D., Dipl. I.O.C.

Secção de Anatomia Patológica

Chefe da Secção:

EITEL LOPES MOREIRA DUARTE, Médico, Dipl. I.O.C.

RITA ALVES DE ALMEIDA CARDOSO, Médico, Dipl. I.O.C.
JORGE DA SILVA DE PAULA GUIMARÃES, Médico
GILBERTO DE AZEVEDO TEIXEIRA, Estudante de Medicina
HENRIQUE OLÍMPIO MONAT DA FONSECA, Estudante de Medicina

Secção de Hematologia

Chefe da Secção:

WALTER OSWALDO CRUZ, Médico, Dipl. I.O.C.

HALLEY PACHECO DE OLIVEIRA, Médico — PEDRO CLÓVIS JUNQUEIRA, Médico

Secção de Medicina Experimental

Chefe da Secção:

MAURICIO GUDIN, M.D., Professor Catedrático da Faculdade Fluminense de Medicina

MURILO CARDOSO FONTES, Médico

Divisão de Estudos de Endemias

Chefe da Divisão:

(VAGO)

Hospital Evandro Chagas

Chefe do Hospital:

GENARD CARNEIRO DA CUNHA NÓBREGA, M.D.

SINVAL AUGUSTO LINS, M.D. — CÍCERO ALVES MOREIRA, Médico, Dipl. I.O.C.
PEDRO DE VASCONCELOS BARROS, Médico, Dipl. I.O.C. — JOSÉ LISBOA MIRANDA, Médico

Secção de Estatística e Epidemiologia

Chefe da Secção:

OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES, M.D., Dipl. I.O.C., Reitor Magnífico, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais

FELIPE NERY GUIMARÃES, Médico, Dipl. I.O.C.

Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo

Chefe da Secção:

EMMANUEL DIAS, M.D., Dipl. I.O.C.

FRANCISCO DA SILVA LARANJA FILHO, Médico

Divisão de Higiene

Chefe da Divisão:

OCTAVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA
Médico

EDER JANSEN DE MELLO, M.D., Dr. P.H.

Secção de Higiene do Trabalho

.....

Secção de Bioclimatologia

Chefe da Secção:

LAERTE MANHAES DE ANDRADE, Médico

Secção de Nutrição

Chefe da Secção:

TITO ARCOVERDE DE ALBUQUERQUE CAVALCANTI, Médico

Museu

Chefe do Museu:

GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA CASTRO, M.D., Dipl. I.O.C.

Estação de Hidrobiologia

Encarregado da Estação:

LEJEUNE PACHECO HENRIQUE DE OLIVEIRA, Médico, Dipl. I.O.C.

LUIZA KRAU, Lic. Fac. Nac. Filosofia
ALOYSIO CALHEIROS DA GRAÇA DE MELLO LEITÃO, Médico

Hôrto de Plantas Medicinais

Encarregado do Hôrto:

HENRIQUE PIMENTA VELOSO, Agrônomo

HELMUT HAMACHER, Agrônomo
MARIA CELINA CASSALES DE ESCOSTEGUY, Dipl. I.O.C., Dipl. Farm.
RENATO JOSE DE SIQUEIRA JACCOUD, Dipl. I.O.C., Dipl. Farm.

Secção Auxiliar — Biotério Geral

ORIDÉA EBBA ZANASI FERNANDES, Dipl. Farm

Secção de Electronomicroscopia

HANS MUTH, Engenheiro, Dr. em Ciências Naturais

Aposentados

JOÃO DE BARROS BARRETO, M.D., Dipl. I.O.C., Prof. Cat. da Fac. de Ciências Médicas
OSVINO ALVARES PENNA, M.D., Dipl. I.O.C., Prof. Cat. da Fac. Fluminense de Medicina
EURICO DE AZEVEDO VILLELA, M.D., Prof. Cat. da Fac. de Med. da Univ. de Minas Gerais
JORGE AFONSO FRANCO, M.D. — PAULO AFONSO FRANCO, M.D.

Falecidos

Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ (1.º Diretor)
Dr. CARLOS RIBEIRO JUSTINIANO DAS CHAGAS (2.º Diretor)
Dr. ANTONIO CARDOSO FONTES (3.º Diretor)
Dr. ALCIDES GODOY — Dr. ADOLFO LUTZ — Dr. ALVARO LOBO LEITE PEREIRA
Dr. ARTHUR NEIVA — Dr. ASTROGILDO MACHADO
Dr. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA — Dr. ARCHANJO PENNA SOARES DE AZEVEDO
Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ — Dr. CESAR GUERREIRO
Dr. EZEQUIEL CAETANO DIAS — Dr. EVANDRO SERAFIM LOBO CHAGAS
Dr. ERNANI MARTINS DA SILVA — Dr. GASPAR DE OLIVEIRA VIANNA
Dr. HENRIQUE DE FIGUEIREDO VASCONCELOS — Dr. JOSÉ DA COSTA CRUZ
Dr. JOSÉ DE CASTRO TEIXEIRA — Dr. LEOCADIO RODRIGUES CHAVES

Cinqüentenário do Instituto Oswaldo Cruz

Com legítima e real satisfação todos aquêles que trabalham no Instituto Oswaldo Cruz assistem à passagem do cinquentenário de sua fundação. Olhando para a distância percorrida nesses cinquenta anos de dedicação e de trabalho é grato registar quanto de útil e proveitoso poude ser realizado. O modestíssimo Laboratório Soroterápico que o Barão de Pedro Affonso estabeleceu em 1900 no remoto e ignorado subúrbio de Manguinhos, instalando-o no velho casario de uma fazenda abandonada, bem cedo se transformou sob a inspirada orientação de Oswaldo Cruz em um centro de investigação científica. A semente assim lançada ràpidamente germinou e hoje frutifica em magnífica colheita. O primitivo Instituto de Manguinhos transformou-se no Instituto Oswaldo Cruz e constitui hoje uma escola importante de estudos biológicos e de medicina experimental que tem prestado valiosos serviços ao país e à ciência.

E' um excepcional privilégio para quem assina estas linhas recordar em uma tal oportunidade as origens modestas desta casa que soube sempre encontrar no exemplo dignificante de seu grande orientador e patrono e no esfôrço e dedicação daqueles que aqui se entregam às labutas da ciência, o mais poderoso e eficaz incentivo para o ideal que presidiu à sua fundação.

Rio de Janeiro, agôsto de 1950

OLYMPIO DA FONSECA, FILHO
Diretor do Instituto Oswaldo Cruz

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 48 TOMO COMEMORATIVO DO CINQUENTENÁRIO DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ 1950

Noticia histórica sôbre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz

(Instituto de Manguinhos)

pelo

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Findava-se o ano de 1899 quando inesperadamente chegou ao Rio de Janeiro, a apavorante notícia de que a peste bubônica aportara à cidade de Santos, em São Paulo, onde já se haviam verificado os primeiros casos do mal, prontamente ali confirmados clínica e bacteriologicamente por Oswaldo Cruz, Adolpho Lutz e Vital Brasil, designados, o primeiro pelo Govêrno Federal e os dois últimos pelo Estadual, para estudarem o assunto.

Em vista da grave situação que esta calamitosa ocorrência criava para a saúde pública, porquanto havia toda probabiildade que o mal se alastrasse, como de facto sucedeu, acudiram logo as autoridades sanitárias com as medidas de profilaxia aconselhadas, na época, decidindo ao mesmo tempo, a criação de laboratórios para a preparação de soro e vacina contra a peste, produtos então de elevado preço e difícil importação do estrangeiro.

Resultou dessa acertada providência a fundação, em S. Paulo, do Instituto Butantan e, no Rio de Janeiro, a do Instituto Soroterápico Municipal, em virtude de haver a Prefeitura do Distrito Federal, mediante sugestão do Barão de Pedro Affonso, decidido encarregar-se da instalação dêste.

A organização do Instituto de Butantan foi confiada a Vital Brasil, discípulo de Lutz, no Instituto Bacteriológico de São Paulo e, a do Instituto Municipal, ao Barão de Pedro Affonso, médico e

cirurgião conceituado, homem enérgico e realizador que se notabilizara já por haver criado o primeiro instituto de preparação da vacina Jeneriana no Brasil, e pelo trabalho de vulgarização do emprêgo, em nosso meio, do soro antidiftérico, logo após a descoberta do mesmo, estando além disso, ao par do funcionamento de alguns laboratórios europeus, que visitara detidamente em viagens de estudos realizadas.

Hoje, a vacinação antivariólica e as injecções de soros são práticas banais, perfeitamente aceitas pelo povo, mas ao tempo em que foram introduzidas em nosso País, não era fácil persuadir-se alguem a se submeter à inoculação de "pús de vitelo" ou de "soro de cavalo", práticas que mais se afiguravam de magia negra que de Medicina corrente. Assim, teve o Barão de PEDRO AFFONSO de quebrar muitas resistências antes que pudesse vulgarizar o emprêgo de tais métodos biológicos profiláticos e terapêuticos, no Brasil.

Tomou o Barão de PEDRO AFFONSO, com estas credenciais, sem vacilar, a árdua tarefa de organizar o recém-criado Instituto e iniciou logo entendimentos para a escolha dos técnicos brasileiros que deveriam com êle colaborar, conseguindo, dentro em pouco, contar com os seguintes valiosos elementos: o Coronel ISMAEL DA ROCHA, bacteriologista do Serviço de Saúde do Exército, OSWALDO CRUZ, um jovem médico que, desde estudante, se dedicara à Bacteriologia especializando-se depois, no Instituto Pasteur de Paris durante quasi três anos, HENRIQUE FIGUEIREDO DE VASCONCELOS, assistente do Instituto Vacinico e o estudante de Medicina EZEQUIEL CAETANO DIAS.

Logo que teve assegurados êsses colaboradores passou o Barão a cogitar da escolha de um local apropriado para a instalação do futuro Instituto e, após algumas excursões pelos arredores do Rio com ISMAEL DA ROCHA, OSWALDO e VASCONCELOS, as preferências gerais se convergiram para a Fazenda de Manguinhos, situada à beira-mar, num dos subúrbios da Leopoldina, próximo à cidade todavia naquela época, ainda quasi deshabitados e servidos por escassos trens. A Fazenda pertencia à Municipalidade que, em outros tempos, havia construido em seus terrenos um forno de cremar lixo que jamais chegou a funcionar, por deficiência técnica.

A área da propriedade era de uns 800 mil metros quadrados ficando situada entre a estação de Amorim, hoje Carlos Chagas, e o mar.

Seu acesso era, na época, sobretudo incômodo por serem escassos os trens e de difícil navegação o mar raso e lamacento da enseada do Cajú, que lhe ficava à frente.

Na faixa lamosa, invadida periodicamente pelas marés que cercava em grande parte o terreno, existiam verdajantes bosques de mangues entre cujas raizes tentaculares se movimentava, incerta, uma variada fauna de bizarros caranguejos e, em cujas copas altas pousavam alvas garças e pachorrentos socós côr de cinza quando não estavam pescando nas águas rasas ou animando o ambiente ermo e tranquilo dêsse recôncavo da baía do Rio com os seus vôos brandos e cadenciados.

Espalhadas naquele mar sereno viam-se algumas pitorescas ilhotas e três ilhas maiores — a da Sapucaia, Bom Jesús e Governador, tudo ao longe cercado pela magestosa moldura constituida pela alta serrania do Corcovado, Tijuca, Petrópolis, Terezópolis, Pedra Assú e Tinguá.

A vista espraiando-se pelos subúrbios da Leopoldina, ainda pouco habitados e em fase agrícola, apenas se detinha com interêsse na ermida da Penha, de aspecto agradável e pitoresco, ao alto de um volumoso bloco de granito e muito procurada pelo povo, sobretudo portugueses, na época das tradicionais romarias do mês de outubro, hoje entretanto em decadência e sem o pitoresco de outros tempos.

O terreno da Fazenda, na parte não atingida pelas marés era sílico-argiloso, desdobrando-se em duas colinas separadas por uma baixada pouco larga, vendo-se por todo êle esparsos copados tamarineiros, vetustas mangueiras, cajueiros, pitangueiras, goiabeiras, numerosos coqueiros, uma magestosa esterculeacea, meia duzia de casuarinas que foram de especial predileção de Oswaldo e um jovem "Ficus benjaminea" hoje grande árvore, cujo tronco se vê ainda ao centro da nossa antiga sala de refeições.

Era tudo o que restava das antigas plantações da propriedade agrícola, naquela época em completo abandono.

No meio do terreno, a quebrar-lhe o pitoresco, erguia-se hirta a alta chaminé dos fornos de lixo a qual foi demolida em 1938 por causar embaraços às descidas dos aviões, no atual campo de aviação próximo ao Instituto. Sôbre as colinas existiam duas velhas casinhas, meio arruinadas que se decidiu, então aproveitar-se para os futuros laboratórios após os necessários reparos e adaptações.

Não obstante a distância da cidade, a precariedade das construções existentes e seu isolamento, o local se afigurou a todos, sobretudo a Oswaldo, muito apropriado à instalação de laboratórios em que se iria trabalhar com essa peste bubônica, tão justamente temida pelo povo.

A razão do agrado de Oswaldo por êsse local isolado e tranquilo foi parecer-lhe o mesmo, desde logo, muito adequado à concretização do grandioso projeto que trouxera consigo da Europa, de fundar, um dia, no Brasil, uma grande escola de Biologia e Medicina experimental, na qual, a ciência, em que êle depositava "fé eterna", conforme expressão sua, fosse objeto de um culto constante, cheio de elevação e fervor.

Empolgado por êsse magnífico ideal, ainda guardado em segredo, Oswaldo Cruz não quisera ficar no Instituto Pasteur de Paris para o qual fôra convidado, por Emile Roux e Metchnikoff, que muito apreciavam o seu grande valor e a sua capacidade de investigador de primeira ordem.

Aquí no Brasil, esperava êle ver realizado, um dia, êsse sonho carinhosamente acariciado, confiante na sua estrela e no poder daquelas quatro palavras que constituiam o lema orientador da sua conduta na vida: SABER — ESPERAR — QUERER — PODER.

OSWALDO, quando interrogado sôbre a interpretação que dava a essas quatro palavras, sempre se recusava a dar esclarecimentos a respeito, dizendo que melhor seria que cada qual lhe desse a significação que julgasse mais adequada e, mudava de assunto.

O tempo traria a desejada confirmação às suas esperanças, porquanto vencendo todos os obstáculos, alcançou afinal o que tanto almejava, sacrificando embora, a sua própria existência oferecida em holocausto à realização dêsse grande ideal tão puro quão elevado e patriótico.

Uma vez escolhido o local para o funcionamento do futuro Instituto e determinadas rapidamente as necessárias adaptações para a transformação das duas casinhas da Fazenda em pequenos laboratórios de urgência, assim como resolvida a construção de cocheira, biotérios, sala de sangria e outras dependências imprescindíveis, seguiu o Barão de PEDRO AFFONSO para a Europa afim de adquirir aparelhos e contratar alguns técnicos para completar sua equipe.

Em Paris, não teve dificuldades em obter todo o material necessário para os futuros laboratórios; o mesmo porém não acontecendo em relação aos técnicos pois, apesar de toda a boa vontade de ROUX, em servi-lo, apenas pôde trazer o veterinário CARRÉ, que já trabalhara em peste com YERSIN, em vista de haver-lhe o Govêrno brasileiro autorizado apenas a realizar contratos pelo prazo de seis meses e, nestas condições, nenhum bacteriologista de renome concordou em vir ao Brasil.

Não desanimou, por êsse motivo, o Barão de PEDRO AFFONSO de seu arraigado propósito e, ao regressar ao nosso País, ainda solicitou do Govêrno que estendesse a um ano o prazo do contrato, em vista do insucesso que tivera com aquele anteriormente autorizado.

Explica-se essa insistência de PEDRO AFFONSO, em contratar um bacteriologista estrangeiro para o Instituto com o facto de ainda não ter tido oportunidade de apreciar de perto o trabalho dos componentes do seu grupo, mas desde que presenciou as suas atividades, sobretudo as de OSWALDO em Manguinhos, abandonou por completo tal idéia convencendo-se logo de que sua própria gente brasileira resolveria sozinha todos os problemas em questão.

Com esta atitude, tão louvável, demonstrou êle, mais uma vez, sua capacidade no aquilatar com segurança, os méritos dos seus colaboradores.

Tendo chegado o material adquirido na França, completaram-se rapidamente as instalações dos laboratórios, receberam-se como oferta do Prefeito CESÁRIO ALVIM e do Dr. AZEVEDO LIMA, alguns cavalos para a preparação do soro, e adquiriram-se por compra outros e bem assim pequenos animais de experiência tais como coelhos, cobaias e ratos. Estava então o Instituto pronto para iniciar a sua memorável missão.

Entrementes, a Prefeitura alegando não poder mais arcar com as despesas da nova fundação por ter também em organização um

indispensável laboratório veterinário anexo ao Matadouro de Santa Cruz, entrou em entendimentos com o Govêrno Federal, doando à União o recém-criado laboratório de Manguinhos com todo o seu material e instalações fazendo-lhe também a respectiva transferência do pessoal já contratado.

Em vista dêsse acôrdo, passou o Instituto a denominar-se Instituto Soroterápico Federal, sob a dependência da Diretoria de Saúde Pública então subordinada ao Ministério da Justiça e Negócios Interiores.

Sua inauguração oficial teve lugar a 25 de Maio de 1900, com a presença do Prefeito Dr. Cesário Alvim, do Ministro do Interior Dr. Epitácio Pessoa, do Professor Nuno de Andrade, Diretor de Saúde Pública, do Diretor da nova instituição, Barão de Pedro Affonso, do pessoal técnico do Instituto e de algumas pessoas mais, numa cerimônia simples e condizente com a modéstia daqueles laboratórios improvisados nas duas velhas casinhas e que, no entanto, estavam fadadas a ser um dia, o germe do maior e mais prestigioso centro de Biologia e Medicina Experimental do Brasil.

Embora ainda faltassem ser completadas algumas adaptações dos laboratórios, iniciaram-se logo os trabalhos após árduas fainas, do período de instalação que a ninguem parecia correr bastante rápido.

O Barão de Pedro Affonso era o primeiro a dar exemplo de assiduidade e interesse para que as atividades do Instituto fossem coroadas de êxito, dentro do mais breve prazo.

Não tendo êle conseguido, como desejava, uma lancha para trazer o pessoal por mar, vinha-se então para Manguinhos pela manhã reunindo-se todos na Estação de S. Francisco Xavier, donde partia o trem suburbano da Leopoldina que servia o Instituto.

Como só havia êsse comboio quem não o alcançasse tinha que fazer uma jornada a pé, de cêrca de quatro quilômetros, muitas vezes sob um sol ardente, ou então debaixo de impiedosa chuva arrostando ainda, à chegada, os olhares pouco satisfeitos do Diretor que era a pontualidade personificada.

Pouco antes da partida do trem, o grupo estava completo.

A figura de Oswaldo destacava-se dentre os presentes. Havia alguma coisa de inconfundivel nesse homem ainda jovem mas precocemente encanecido, de estatura meã, tez clara, o rosto fino, bigodes pretos com as pontas voltadas para cima, e um olhar a um tempo suave e penetrante. Vestia-se de preto, usando longa sobrecasaca e, na sua indumentária, fazia contraste a alva gravata de fustão cujas pontas, feito o laço, perdiam-se debaixo do colete. Cobria-lhe a cabeça uma cartola de abas recurvadas e copa demasiadamente longa para a moda da época. Cabelos compridos pretos, mesclados de fios prateados, escapavam-se em mechas indiscipilnadas, por baixo das abas da cartola. Trazia sempre sob o braço volumosa pasta de couro preto, cheia de papeis e revistas cientificas.

Sua pessoa e modos eram cativantes. Falava pouco preferindo ouvir, mas sempre que tinha de manifestar sua opinião, fazia-o de modo

correto, suave e preciso, de quem tinha segurança e meditação no assunto.

Foi-se desde logo impondo aos demais, embora ainda quasi um desconhecido.

Sabia-se que fôra discipulo distinto dos grandes mestres FRANCISCO DE CASTRO, ROCHA FARIA e MARTINS TEIXEIRA, que desde estudante se dedicara a estudos de Bacteriologia elaborando sua tese sôbre "A veiculação microbiana pelas águas" e, logo depois, seguira para a França, onde, no Instituto Pasteur de Paris, fez curso e trabalhou, assim como no Instituto Municipal, realizando ainda, várias pesquisas valiosas que despertaram muito interesse nos meios científicos e lhe granjearam prestígio entre seus mestres e colegas europeus.

Aos poucos convergiram para êle as simpatias e as atenções gerais dos companheiros.

Chegada a hora da partida do comboio de poucos vagões, embarcvaam todos, formando pequenos grupos pelos bancos, enquanto o Barão de PEDRO AFFONSO, quase sempre de calças brancas e envergando sobrecasaca preta e chepéu duro da mesma côr, se isolava para pôr-se ao corrente das notícias do dia pela leitura do seu jornal.

Os outros passageiros do trem olhavam entre desconfiados e respeitosos, aquela gente que trabalhava com peste bubônica, fazendo comentários em voz baixa, mas um deles estabeleceu logo relações cordiais com a gente do laboratório.

Era LUIZ DE MORAES um jóvem arquiteto português vivo e insinuante, vindo ao Brasil por dias e que depois ficou aquí para sempre, notabilizando-se, mais tarde, na construção do palácio mourisco e das outras primeiras edificações de vulto feitas, em Manguinhos.

No momento estava reconstruindo a ermida da Penha e pouco mais se sabia dele e dos seus afazeres.

O pequeno percurso corria rápido, entre comentários variados e um ou outro dito de espírito.

Em uns dez minutos chegava-se á parada do Amorim, que servia a Manguinhos.

Havia três cavalos, selados para os mais graduados, seguindo os outros a pé conversando alegremente, pelo caminho que galgava suavemente a encosta, levando aos laboratórios não muito distantes.

Logo após à chegada todos os técnicos vestiam suas blusas brancas e iam para seus postos; reinava silêncio e cada qual se ocupava do trabalho que lhe competia realizar, visando o preparo da vacina e do soro antipestosos.

Ao soar do meio dia, suspendia-se o labor para o almoço na estreita varanda da Casinha da Fazenda. A mesa estava posta sôbre uma meia porta, que se apoiava sôbre duas barricas vazias e era coberta, parcialmente, por uma toalha grosseira, havendo dois longos bancos de madeira de cada lado, para os convivas se sentarem. Todos se apressavam porque a comida não era muito abundante: um clássico ensopado de galinha com batatas, arroz, pão e, para terminar, algumas

bananas e café ralo. Quem se atrasava só encontrava ossos e traços de arroz. Não havia motivo para que o repasto fosse demorado, e uns vinte minutos depois já o trabalho recomeçava, embora os estômagos não estivessem muito satisfeitos. Não havia jantar e, quem tivesse de ficar até mais tarde no Instituto, devia trazer seu farnel ou então recorrer aos azares das frutas nas matas adjacentes.

As atividades deviam ser conduzidas com estrita economia porque o minguado orçamento de sessenta mil Cruzeiros anuais de que dispunha o Instituto não permitia larguezas, mas apesar disso, podia-se trabalhar com relativa facilidade porque havia o essencial. Todos se adaptavam com a melhor boa vontade às circunstâncias e os trabalhos se realizavam com muita perfeição sob a fiscalização econômica do Barão que, se não admitia esbanjamentos também não impedia os dispêndios quando justificados e necessários.

Todos se sentiam satisfeitos e iam insensivelmente se apegando àquele ambiente tão novo no nosso meio que era então o de um laboratório de pesquisas.

Na distribuição inicial dos trabalhos coube a Oswaldo, auxiliado por Ezequiel Dias, a preparação do soro antipestoso, no laboratório mais perto da estação da Leopoldina e, ao Dr. Ismael da Rocha com Figueiredo de Vasconcelos e o Veterinário Carré, a fabricação da vacina, no outro mais próximo ao mar.

Apenas iniciados os trabalhos já o Coronel Ismael da Rocha tinha de retornar às suas funções no laboratório do Serviço de Saúde do Exército, no qual seu trabalho como bacteriologista se tornara muito necessário em virtude da peste ter surgido também no Rio de Janeiro e estar-se alastrando pela cidade pondo em risco as forças armadas.

Além disso, alegando motivo de saúde, o veterinário Carré rescindiu seu contrato, regressando à França.

Em vista dessas retiradas ficou bastante desfalcada a já muito restrita equipe de técnicos do Instituto, mas o Barão de Pedro Affonso não cogitou de substituí-los por outros elementos categorizados, porquanto agora completamente conhecedor da competência e capacidade de Oswaldo para realizar todo o trabalho, com o auxilio dos demais, entregou-lhe, sem hesitar, toda a responsabilidade dos serviços técnicos da preparação do soro e da vacina contra a peste.

Apenas admitiu mais um estudante de Medicina — Antonio Cardoso Fontes e alguns serventes, para facilitar os trabalhos.

Daí em diante, a partir de meados de julho de 1900, concentraram-se todas as atividades num só dos laboratórios, o mais próximo à estação da Leopoldina que era o maior e mais confortável, reservando-se a segunda casinha para moradia de um ou outro servidor e para algum eventual pernoite dos técnicos, quando as experiências, em curso, tornavam necessária uma permanência mais prolongada no laboratório.

O Instituto Soroterápico Federal ficou então constituido pela casa maior, como centro dos trabalhos, tendo como dependências anexas,

quase todas próximas, a cocheira, o biotério, as gaiolas para guardar os animais destinados às experiências, capinzais, potreiros para os cavalos e, mais distante próximo a chaminé dos fornos de lixo, uma pequena casinha toda protegida por meio de telas metálicas à prova de insetos, com quatro báias na qual se encerravam os cavalos inoculados com micróbios vivos da peste, no correr das imunizações.

O edifício do laboratório em que foram concentrados os trabalhos técnicos depois que a chefia dos mesmos passou a OSWALDO, era o que de mais simples podia haver no gênero. Uma casa térrea quase nada elevada do solo na qual, à entrada, voltada para o lado da estação da Leopoldina, havia uma estreita varanda à esquerda da qual se via um grande autoclave a carvão, para as esterilizações volumosas e à direita um alambique para destilação de água. Dessa varanda passava-se à sala de trabalhos gerais, relativamente ampla, da largura do prédio, na qual haviam junto a uma das paredes alguns armários altos destinados a guardarem materiais diversos, uma grande mesa quase ao centro e outra retangular, ladrilhada, no ângulo esquerdo e sôbre a qual estavam colocadas as estufas para fixar lâminas de sangue ao calor seco, a de coagular soro, a de esterilizar vacina antipestosa, uma balança comum, um centrífugo a mão e um aparelho de Martin para filtrar sob pressão. Em outros pontos da mesma sala havia o maçarico insuflado por meio de um pedal, com o qual se faziam pipetas e outros trabalhos em vidro, uma estufa de Roux e uma pia. Uma porta à esquerda dava acesso à salinha cujo piso era revestido com ladrilhos, tendo as portas e janelas protegidas por fina tela de arame, na qual se trabalhava com peste e onde entravam sòmente os encarregados do serviço. À direita de quem entrava havia ainda uma passagem para a sala de lavagem da vidraria, esterilização e preparação dos meios de cultura. Por um corredor passava-se à sala da frente havendo nele à direita uma saleta estreita em que se conservavam as balanças de precisão e um espectroscópio. A sala da frente era especialmente destinada à microscopia, às colorações e outros trabalhos técnicos. Existiam ali duas mesas próximas a janela com um microscópio cada uma, além de outra, ao centro e alguns armários junto às paredes com hematímetros, hematócritos, câmaras claras, aparelhos de medidas microscópicas, densímetros, corantes, meios de cultura, livros, revistas, etc. Desta sala ia-se ter ao vestiário dos técnicos, à direita e à varanda que ocupava toda a frente do prédio e que servia de sala de almoço e para alguns trabalhos, sobretudo o das criações de mosquitos. A varanda dava saída à esquerda para o terreno no qual havia uma gaiola hexagonal dividida em setores, na qual eram guardados os coelhos e cobaias para as experiências e outra retangular para macacos.

Ao lado direito do Instituto existia um conjunto de dependências ligados a êle, constituido pela sala de sangria e de pesagem dos cavalos, envidraçada dos dois lados, a partir de certa altura, o depósito de vidraria, o quartinho em que se colocavam os cristalizadores com sangue após as sangrias, as instalações sanitárias e uma pequena oficina. À

direita e muito próximo a estas edificações foi construida uma grande cocheira para vinte cavalos. Um pouco à esquerda e antes de se chegar ao prédio, numa ligeira elevação do terreno ficava o biotério com um pequeno depósito para gaiolas e forragem à frente e tendo para trás duas divisões; uma, exclusiva para os pequenos animais inoculados com peste e outra para os demais trabalhos do Instituto.

Mais tarde, em começos de 1903, construiu-se uma pequena casa, com um corredor de entrada, ao centro, e dois pequenos laboratórios laterais, de pisos revestidos com ladrilhos de cerâmica, paredes com azulejos tendo os ângulos internos arredondados e as janelas protegidas contra insetos por meio de telas de arame, condições que constituiam melhorias técnicas até então desconhecidas, em Manguinhos.

Num dos laboratórios passou-se a trabalhar com peste e no outro em assuntos de bacteriologia e de anatomia patológica.

Em começos de 1904, o arquiteto Luiz de Moraes fez sua primeira obra em Manguinhos: um comprido bloco em cimento, com duas séries de gaiolas superpostas, para os animais em experiência, tendo o conjunto um aspecto original e agradável.

Eram estas as instalações de Manguinhos dos primeiros tempos, no que diz respeito a laboratórios e suas dependências.

Nada se podia conceber de mais simples e modesto, mas havia ali o que era absolutamente essencial a qualquer organização científica: um cérebro capaz de dar orientação segura todo voltado para um nobre ideal e um grande entusiasmo de todos pelo trabalho e pelas investigações científicas. Não é portanto para admirar que dêsse ambiente tão simples e mal provido de meios materiais, tivessem surgido trabalhos originais que lhe fossem granjeando renome e lhe assegurassem a vida, desde os primeiros dias de sua existência.

Logo que foram iniciados os trabalhos, naqueles pequenos laboratórios improvisados em velhas casinhas, patentearam-se aos olhos de todos a personalidade rara, o alto saber e as exímias qualidades de chefe, que possuia Oswaldo, e que o conduziriam, seguramente, no futuro, a feitos e vitórias sem par nos anais científicos brasieliros. Suavemente, mais pedindo do que mandando, êle ia conduzindo com segurança e método o rítmo do trabalho e instruindo seus primeiros auxiliares que êle preferia ignorantes em Bacteriologia ou outro assunto de pesquisa, mas inteligentes e prestimosos, fossem êles médicos, estudantes ou, simples serventes. Exigia o maior rigor de técnica em todos os trabalhos, mesmo os menos complicados. Êle próprio os executava primeiro, desde uma simples lavagem do material, uma esterilização, o preparo de um meio de cultura, um trabalho em vidro, ao maçarico, uma coloração, uma pesada, um exame ao microscópio. Estava sempre pronto a repetir pacientemente até que a aprendizagem fosse perfeita e pudesse adquirir confiança no serviço do seu ajudante. Não permitia simplificações prejudiciais ao rigor do trabalho mas, aceitava e apreciava qualquer sugestão razoável que lhe fosse apresentada demonstrando interesse por uma solução a mais, para dado problema técnico. Resolvia as dificuldades com decisões seguras e sem precipi-

tação; animava e encorajava o trabalho de cada um dos seus auxiliares e agradecia sempre qualquer serviço que lhe fosse prestado, embora diminuto. E, êle que era ao começo quase um desconhecido, foi-se aos poucos impondo ao respeito e à consideração de todos os demais que lhe apreciando as raras qualidades de um perfeito condutor de homens, anteviam que seria um dia o chefe de alguma coisa maior e muito mais importante do que aquele modesto laboratório de preparação de soro profilático contra a peste. No seu íntimo, OSWALDO também assim pensava mas até então não exteriorizara sua convicção a êsse respeito.

Os trabalhos técnicos de Manguinhos superiormente conduzidos por OSWALDO, atingiram rapidamente a fase de produção dos desejados soros e vacinas contra a peste, os quais aperfeiçoados, desde logo, por pesquisas originais suas, encontraram na prática a mais vitoriosa acolhida por parte de clínicos e sanitaristas que empregavam êsses específicos, e reconheciam, cheios de entusiasmo, sua eficiente ação. Êsse sucesso inicial causou satisfação a OSWALDO, alegrando seus primeiros discípulos, mas não pareceu afetá-lo particularmente porque êle tinha em mente realizações e feitos muito maiores e, por ora, estava apenas no início de uma longa e árdua jornada que deveria palmilhar, sem descanso, até onde, suas energias o ajudassem. Nesse período inicial parecia ter estado a tatear o terreno onde projetava desenvolver um grandioso plano de ação que só êle sabia a extensão que deveria alcançar.

Sentindo-se agora mais firme com o sucesso alcançado pela vacina e o soro antipestosos, iniciou resolutamente a luta pela concretização do programa, há muito elaborado, em suas cogitações, lançando-se sozinho ao começo, numa vasta série de originais pesquisas sôbre variados assuntos de Bacteriologia, Hematologia, Entomologia, Patologia tropical e outros e em breve tinha em mãos resultados excelentes, que lhe permitiram a divulgação das suas investigações em tão diversos assuntos.

São dessa época suas publicações sôbre a vacinação antipestosa, em que introduziu o método original de dosagem por pesada, as pesquisas sôbre a curva hemoleucocitária nas infeções e intoxicações, os trabalhos sôbre os culicídios brasileiros com a descrição da nova espécie "Anofeles lutzi", o estudo sôbre os acidentes em soroterapia, a vacinação antipestosa e outros mais, que foram divulgados no "Brasil Médico", nos "Anales d'Hygiène", "Archives de Medecine Experimentale", no "Zeitschrift für Mikroscopie" e em outras revistas nacionais e estrangeiras.

Não era amigo de fazer freqüentes comunicações às academias ou de tomar parte nas discussões, por vezes acirradas, que aí se travam.

Os poucos que então trabalhavam a seu lado olhavam, maravilhados para aquele homem que, de um momento para outro, lhes revelava toda sua rara personalidade de pesquisador arguto e de conhecimentos tão grandes quão variados.

Manifestaram sua admiração e o Mestre com a simplicidade habitual, disse-lhes que poderiam fazer o mesmo e que tudo aquilo apenas dependia de um pouco de estudo e de trabalho assíduo, com um objectivo determinado. E para lhes dar confiança na capacidade própria, logo os associou aos seus trabalhos, começando a guiar-lhes os primeiros passos ainda incertos e cautelosos, nesse terreno tão novo e desconhecido para êles, das investigações científicas.

Ocorreu então qualquer coisa de muito insignificante na aparência, mas na realidade de decisiva importância nos fastos da Medicina Experimental no Brasil. Num dêsses trabalhos pubilcados em 1901, sôbre "A vacinação antipestosa", OSWALDO CRUZ colocou a seguinte indicação de origem logo abaixo do título e do nome do autor: Trabalho do Instituto Soroterápico Federal (Instituto de Manguinhos), e, na sua primeira página, apareceu impressa a seguinte dedicatória que a todos surpreendeu e intrigou: "Ao Exmo. Sr. Barão de PEDRO AFFONSO — Fundador e Diretor do Instituto de Manguinhos". Umas poucas palavras amáveis, às quais, no entanto, um homem predestinado ia conferir uma estranha força criadora e construtiva.

Êsse Instituto de Manguinhos que surgia assim, inesperadamente, sem decretos governamentais, nem atos jurídicos que tivessem legalizado sua existência e que, no fundo, não passava de uma tênue exteriorização de um grandioso sonho estava fadado, no entanto, a ter, no futuro, a mais profunda influência nos destinos científicos do Brasil.

Essa célebre dedicatória, tão simples nas suas poucas frases, valeu por um aviso solene, por um vibrante toque de clarim na alvorada de uma dia de batalha; era a revelação a toods de que OSWALDO CRUZ ia lançar-se decidida e corajosamente, na luta para a realização do magnífico programa que se traçara, e que até então mantivera em segredo, de dotar, um dia, o Brasil de uma prestigiosa escola de Biologia e Medicina Experimental.

E, daí em diante não teve mais um só momento de descanso, num constante esfôrço para obter a integral realização de tão elevado e patriótico objetivo, ao qual dedicou todas as energias de sua vida até seu completo e definitivo esgotamento.

Sugestionado pelos argumentos de OSWALDO em pról da criação do seu Instituto científico, o Barão de PEDRO AFFONSO, êle também no seu gênero uma individualidade capaz e realizadora, apreendeu logo todo o alcance da grande iniciativa projetada e nenhuma objeção opoz à fundação dêsse anexo científico junto ao Instituto Soroterápico Federal, que dirigia com tanto zelo e desinteresse.

Por sua vez, OSWALDO, cheio de desprendimento, como sempre, e com o coração reconhecido a quem tão bem compreendera seus elevados intuitos, conferiu-lhe o mais alto título de que podia dispor, na instituição ideal que acabara de fundar. E, dêste feliz e mútuo entendimento entre homens tão diferentes no modo de ser, mas aproximados e compreensivos quando se tratava de realizar alguma coisa de útil e

elevada em suas finalidades resultou a grande Escola Experimental com que OSWALDO dotou sua Pátria.

No momento em que o Barão de PEDRO AFFONSO estendeu, assim, tão decisivamente suas mãos à OSWALDO CRUZ, êle, que já prestara tantos e tão assinalados serviços ao Brasil, ainda uma vez e melhor o servia.

E' por isso de toda a justiça repetir aquí, a êste respetio, a apreciação imparcial dêsse grande médico, maior brasileiro e inigualável amigo de OSWALDO, o Dr. SALLES GUERRA, no seu livro famoso sôbre o Mestre: "O Barão de PEDRO AFFONSO foi, portanto, um benemérito".

Depois de ter assim procedido tão nobremente em relação a OSWALDO CRUZ, o Barão de PEDRO AFFONSO não demorou muito à frente do Instituto e, um pouco agastado com uma indagação administrativa que justamente o irritara e, também, por desejar fazer mais uma demorada viagem à Europa, deixou a direção do Instituto, em Dezembro de 1902, após haver dado o mais completo desempenho à missão que lhe fôra confiada, organizando e dirigindo a instituição durante três anos, sem receber remuneração alguma e, por vezes, adiantando dinheiro do seu bolso para atender a despesas urgentes, a fim de que as atividades científicas e práticas não fossem prejudicadas.

Com a exoneração do Barão de PEDRO AFFONSO a direção técnica e administrativa do Instituto Soroterápico Federal passou, natural e logicamente, a OSWALDO a quem se oferecia, assim uma nova oportunidade para desenvolver e consolidar, com maior liberdade de ação, o seu recém-criado Instituto de Manguinhos que, com o correr do tempo, foi adquirindo fama, consolidando seu prestígio e se impondo à consideração dos nossos meios médicos pelo rigor e originalidade dos seus trabalhos científicos.

Sentiam todos que em Manguinhos cultivava-se a ciência em moldes até então desconhecidos em nosso ambiente e, por êsse motivo, não é para surpreender que, novos elementos dotados de interesse e curiosidade científica fossem, irresistivelmente, sendo atraidos para aquele modesto laboratório distante e de difícil acesso, no qual OSWALDO imprimia, em grande estilo, novos rumos à ciência experimental, no Brasil, nos mais diversos ramos da Medicina e da Higiene.

Começou então a estabelecer-se verdadeira romaria de médicos, professores e de simples estudantes que vinham a Manguinhos à procura do Mestre, desejosos de fazerem sua iniciação científica ou, elaborar teses de doutoramento.

Os primeiors adeptos da nova escola científica que vieram a Manguinhos no correr de 1901 e 1902, vencendo as dificuldades do acesso, atraídos pela personalidade e trabalhos de OSWALDO, foram: entre outros, OCTAVIO MACHADO, JOSÉ OSCAR DE ARAUJO, MARIO DE TOLEDO, FERNANDO MAGALHÃES, ROCHA LIMA, MIGUEL COUTO, CARLOS CHAGAS, WALDEMAR SCHILLER, EDUARDO RABELO, EUGENIO LINDENBERG, ANTONIO FERRARI e HENRIQUE MARQUES LISBOA.

Alguns dêsses já eram mestres da Medicina que vinham ouvir a opinião de OSWALDO sôbre dados problemas experimentais, outros estudantes em busca de novos temas e desejosos de elaborar suas teses sob a orientação sábia e esclarecida de OSWALDO. A uns e outros o Mestre acolhia, ouvia e atendia com a sua simplicidade habitual, sempre pronto a iniciar aqueles que o procuravam nos domínios das ciências experimentais, tão pouco explorados naquela época.

Toda essa gente que vinha a Manguinhos nesses primeiros tempos voltava entusiasmada com o que ali se fazia em matéria de pesquisas e com a personalidade do seu diretor científico, quer fossem brasileiros ou estrangeiros como os membros da Missão francesa de Marchoux ou, da alemã de Neumann e Otto que vieram ao nosso país estudar febre amarela.

Embora não pudessem ainda se dar bem conta, sentem todos que ali estava surgindo uma nova era para o Brasil, no campo científico.

Por seu lado OSWALDO antevia que seu grandioso programa estava em bom caminho de realização em vista da atração que seu pequeno Instituto começava a exercer sôbre os estudiosos e pela animação que reinava no laoratório com essa nova gente que chegava, e se ia acomodando do melhor modo possivel para trabalhar e realizar investigações.

O Barão de PEDRO AFFONSO, cujo temperamento era por vezes menos cômodo e não gostava de ser perturbado, não manifestava porém a menor estranheza com a presença de tanta gente nova que vinha agora seguidamente, ao laboratório e trabalhava por todos cantos, pressentindo, sagaz como era, que estava à frente de algo destinado a vir a ser qualquer coisa mais que um simples local para o preparo de vacina e soro contra a peste, então seu objetivo inicial.

Os trabalhos realizados, sob a orientação de OSWALDO por êsses primeiros discípulos versavam sobre variados assuntos: "Etiologia do Paludismo, Crioscopia da Urina, Estudos Hematológicos no Paludismo, Hematologia Normal no Rio de Janeiro, Vacinação e Soroterapia na peste, Hematologia na ancilostomíase, Hematologia na gravidez, Hematologia nas supurações, os quais serviram de assuntos a diversas teses, recebidas com louvores na Faculdade de Medicina e causando sucesso nos demais meios médicos brasileiros pela perfeição e originalidade com que eram abordados os assuntos.

OSWALDO por seu lado, investigava vários assuntos: a fórmula hemoleucocitária nas infecções e intoxicações, a vacina antipestosa, os mosquitos transmissores do paludismo, a tuberculose e ainda encontrava tempo para fazer excursões com VASCONCELOS, EZEQUIEL, ROCHA LIMA e LUIZ DE MORAES à zona, na época muito malarigena, de Sarapuhy, na baixada fluminense, afim de capturar anofelinos e, sòzinho a Curvelo, em Minas Gerais, para estudar o bócio endêmico, trazendo de lá numerosas amostras de água para exame químico e bacteriológico.

Observando-se os assuntos cuidados por OSWALDO e seus primeiros discípulos, o que chama logo a atenção é a sua grande diversidade, esboçando-se assim, desde o início, uma das características mais mar-

cantes da Instituição, em todos os tempos, que tem sido o maior ecletismo nas suas diretivas científicas, no campo da Biologia e da Medicina Experimental. Esta orientação, a um tempo sagaz e feliz de OSWALDO, conferiu desde logo ao Instituto uma grande amplitude de ação no terreno da investigação científica, oferecendo maior oportunidade aos pesquisadores para seguirem seus pendores próprios e fazendo com que Manguinhos, com as suas 22 secções atuais, com tendência a aumentar, seja uma das poucas organizações no seu gênero, a molde do Instituto Pasteur de Paris, ou do Instituto Rockfeller.

Por isso, como estas instituições, êle deverá permanecer sem dependência com qualquer outra organização cultural, universitária ou não, porque, na verdade, é êle uma pequena universidade científica que, dia a dia, vai aumentando seu âmbito de ação, orientada pela tríplice missão sagrada que lhe conferiu OSWALDO, de realizar investigações científicas, divulgar conhecimentos através do ensino, e executar trabalhos de rotina de natureza humanitária.

Esta tríade de benemerência tem sido mantida intangível até hoje e, são sem dúvida, êstes três postulados as colunas mestras em que se apoia o crescente prestígio e a inabalável solidez da grande instituição.

Em princípios de 1903, regressou ao Brasil HENRIQUE ROCHA LIMA que se estivera especializando, na Alemanha, em assuntos de Bacteriologia e Anatomia patológica, ingressando, oficialmente, no Instituto, a convite de OSWALDO. Agora, tinha êste a seu lado dois preciosos colaboradores: FIGUEIREDO DE VASCONCELOS que se ocupava especialmente com a parte administrativa e a preparação do soro e vacina contra a peste, auxiliado por EZEQUIEL DIAS já graduado em Medicina e, ROCHA LIMA, a quem nas suas ausências, confiava os novos discípulos, ficando OSWALDO com a supervisão geral de todos os trabalhos e, como sempre, ao par dos pormenores da vida do Instituto, agora, porém com mais folga para cuidar de outros problemas relativos ao fortalecimento da sua escola os quais muito o preocupavam.

Em meados de 1903, ingressaram no Instituto sucessivamente HENRIQUE ARAGÃO, como estagiário para iniciar-se em Bacteriologia e elaborar sua tese e ALCIDES GODOY transferido do Serviço contra a Febre Amarela para realizar estudos sôbre mosquitos.

Ambos permaneceram no Instituto, onde vieram cuidar, depois, de vários outros assuntos científicos e de aplicação prática.

Embora as verbas permanecessem escassas, o Instituto, sob a direção exclusiva de OSWALDO, foi tendo maiores facilidades para a realização de pesquisas.

Trabalhava-se o mais que se podia, despreocupadamente, com satisfação, com muito interesse pelas pesquisas científicas e com liberdade para investigar sôbre os mais variados assuntos com aprovação ampla de OSWALDO, cujo maior objetivo era alargar o âmbito das atividades praticadas no Instituto.

Ninguem se preocupava com a sua própria situação bastante incerta ainda em relação aos rumos futuros da Instituição: uma simples dependência da Saúde Pública, destituida de qualquer estabilidade e, nada mais...

Confiávamos no destino e nos dávamos por satisfeitos em acompanhar o mestre iluminado por um ideal magnífico a que ligara todas as energias da sua existência e, em cuja companhia o terreno incerto e movediço que palmilhávamos se nos afigurava sólido como um bolco de granito.

Eramos todos jovens e viviamos um momento feliz e absolutamente despreocupado da nossa existência, assim como se fossemos uns "enfants de bohême" da ciência, indiferentes à nossa instabilidade e satisfeitos com parcos proventos ou mesmo sem eles.

A única preocupação do pequeno grupo que então cercava o Mestre era a de corresponder à sua confiança, colaborando com todo o ardor na realização dos seus planos e, êsse futuro cheio de incertezas, viamo-lo radiante e auspicioso ao lado daquele que nos conduzia e orientava, partilhando da sua sorte qualquer que ela viesse a ser.

Nossa situação se apresentava assim insegura, mas sem que por isso nos causasse maiores preocupações, quando em março de 1903, chegou a Manguinhos a agradável notícia que logo sentimos decisiva para os destinos da nova Escola, de que OSWALDO fôra convidado pelo benemérito Presidente da República Dr. FRANCISCO DE PAULA RODRIGUES ALVES, para assumir a direção dos serviços de Saúde Pública Federal, com a missão de extinguir a febre amarela, debelar a peste bubônica e reformar completamente os serviços de Higiene, dando-lhes novos moldes e rumos.

Sentimo-nos ufanos pela ascenção de nosso guia a um cargo em que tão bem poderia demonstrar suas raras qualidades de organizador e chefe, e cujo cenário seria então, mais amplo e adequado que o de Manguinhos. Apenas nos sentiamos intranquilos no que respeitava à possibilidade em manter-se tão assíduo e solícito junto a nós, como até então.

OSWALDO porém, logo nos tranquilizou, assegurando que reservaria as manhãs para o Instituto e as tardes para seus novos e árduos labores na direção dos trabalhos da Saúde Pública.

Com a entrada de OSWALDO para a Saúde Pública, nossa vida em Manguinhos transformou-se muito sob o ponto de vista das facilidades que daí em diante tivemos à nossa disposição para os trabalhos em geral e, sobretudo, para as pesquisas.

Passamos nesse terreno, ràpidamente de pobretões a nababos, e é forçoso confessar que nos adaptamos singularmente bem e bastante depressa. Já se não ia mais de trem ou a pé para o Instituto, tinhamos uma lancha que nos trazia com o Mestre, pela manhã, a qual depois que êle se retirava voltava para ficar à nossa disposição para o retorno tardio à cidade. Havia no Instituto material em abundância: microscópios, micrótomos, estufas, aparelhagens diversas, corantes, substân-

cias químicas, vidraria e, os mais variados animais para experiências, nos chegavam, quando necessários, como por milagre, adquiridos no Rio, em Buenos Aires, Hamburgo ou New York.

Uma das mais auspiciosas conseqüências da estadia de OSWALDO, a testa da Saúde Pública manifestou-se na rápida e violenta hipertrofia que sofreu a até então bem minguada biblioteca do Instituto a qual entrou a crescer aos milhares de volumes, entre livros e revistas, nos mais variados idiomas e assuntos relativos à Biologia, Química, Parasitologia, Medicina Experimental, Bacteriologia, Higiene, e sôbre outros ramos científicos afins, tornando-se bem depressa uma das mais reputadas do Brasil e, hoje, com os seus 100 mil volumes, a melhor do gênero, na América do Sul.

Em vista do crescimento rápido da Biblioteca tornou-se necessário levantar um amplo barracão, próximo ao Instituto, para abrigar os milhares de volumes de livros e revistas que iam chegando.

Esta construção estava dividida em dois compartimentos: o posterior abrangendo dois terços do espaço, servia de depósito aos livros e revistas que iam sendo colocadas ordenadamente nas suas numerosas prateleiras e, a parte da frente, utilizada como sala de leitura e de reuniões semanais dos pesquisadores, afim de se analisar e discutirem-se os resumos dos artigos mais interessantes publicados nas revistas recém-chegadas.

Tinha OSWALDO CRUZ o trabalho de marcar, em cada revista, as publicações mais importantes assinalando o nome daquele que as deveria ler para resumí-las na sessão a realizar-se, semanalmente. E, neste mister ia também orientando o assunto conforme as tendências e predileções que observava em seus discípulos.

As revistas ficavam colocadas ao alcance dos interessados, em prateleiras divididas em escaninhos.

De início nossos bibliotecários eram um tanto bisonhos, mas a partir de 1909 teve o Instituto a felicidade de obter a preciosa colaboração de um homem culto e poliglota, de nacionalidade holandesa, depois naturalizado brasileiro HIPOLITO ASSUERUS OVERMEER que, na Instituição trabalhou por mais de trinta anos, pondo em prática a classificação decimal belga, sugerida por OSWALDO, a qual assegurou à biblioteca uma perfeita organização que, ainda se mantem eficiente até a época atual, sem grandes modificações.

Além de todas as demais facilidades que tinhamos para os trabalhos em Manguinhos, uma nos era particularmente apreciada. E' que cada um de nós dispunha do seu próprio auxiliar de laboratório o que significava termos ao nosso lado, a todos os momentos e quaisquer que fossem as circunstâncias, um servidor leal, diligente e sempre muito dedicado ao seu chefe.

Teremos sempre para com êsses excepcionais ajudantes uma grande dívida de reconhecimento que aqui relembramos numa homenagem, tão afetuosa quão profundamente sincera.

Aliás, os demais servidores de Manguinhos, desde os primeiros dias até hoje, possuem em geral, uma perfeita noção dos seus deveres e responsabilidades para com a Instituição.

Constitue sempre motivo de grande satisfação vermos ainda hoje em Manguinhos êsse excepcional servidor desde os tempos de OSWALDO, que é THEÓPHILO OTTONI MAURÍCIO DE ABREU, o servidor número um do Instituto no conceito geral de todos que ali trabalham, pela maneira irrepreensível por que desempenha as altas funções de sua complexa e árdua incumbência.

Ao fazer esta menção especial, a quem tanto a merece, nosso pensamento evoca nesta oportunidade as figuras de muitos outros servidores dos primeiros e dos mais recentes tempos, cujos nomes seria longo citar e talvez ainda cometendo involuntárias omissões.

Alguns dêsses auxiliares, cuja instrução em geral é de nível pouco elevado adquirem com o correr do tempo apurados dotes de observação e capacidades técnicas que, não fora a falta de uma cultura básica, os nivelariam a verdadeiros biologistas.

O trato amigo, por vezes até fraternal que dispensamos a êsses dedicados servidores e a confiança absoluta que depositamos neles estimula e recompensa-lhes os esforços que fazem para nos servirem, cada vez melhor.

Com OSWALDO a frente da Saúde Pública, as condições inerentes aos trabalhos em Manguinhos tornaram-se cada vez mais favoraveis mediante o seu desvelo ao Instituto.

Sentia êle um especial prazer em atender a tudo o que se pudesse ali necessitar para nossas pesquisas e, não raro, antes que lhe solicitassemos determinado material avisava que já se achava o mesmo no almoxarifado à nossa disposição, anunciando ainda que já encomendara outro que viriamos a necessitar, em breve, pois estava sempre ao corrente dos trabalhos e investigações que iamos realizando.

Como não havia jantar no Instituto, traziamos nossos farneis para o repasto vesperal de vez que trabalhavamos até tarde da noite. Reparando nesta circunstância, o Mestre tomou providências, reservadamente, e um belo dia fomos surpreendidos com a notícia de que haveria jantar, dali em diante, assim como acomodações para aqueles que desejassem pernoitar no Instituto, presos às experiências que não deviam ser interrompidas.

Essa solicitude de todos os momentos e sob variados aspectos, fazia redobrar nossos esforços para retribuí-la servindo com a maior dedicação os ideais pelos quais êle se batia com tanto ardor e tenacidade.

Enquanto assim, cuidava de facilitar o mais possivel as atividades dos seus discípulos ia engendrando um vasto plano de novas construções dignas por sua magestade do reputado Instituto, que imaginava, viria Manguinhos a ser.

Recorreu então ao arquiteto LUIS DE MORAES que, se tornara nosso amigo e cujas qualidades OSWALDO muito apreciava. Em breve apare-

ceram os projetos de diversas construções sólidas, elegantes e amplas, como até então, nunca imaginaramos que o Instituto viesse a ter.

Compreendiam pavilhão para trabalhos com peste bubônica, nova cocheira para produtores de soro, biotérios para criação de animais e, excedendo a tudo imaginável, êsse soberbo edifício principal em estilo mourisco, que, evocador e, misterioso, será pelos tempos vindouros o símbolo de uma Instituição, nascida sob auspícios geniais, e destinada a perscrutar os segredos da vida.

Todas aquelas grandes construções nas quais poderia caber muitas vezes o nosso pequeno laboratório inicial se nos afiguravam desproporcionadas para o diminuto número de discípulos que cercava OSWALDO naquela época e, quando lhe manifestamos nossa surpresa pela grandiosidade do seu empreendimento, replicou com o seu agudo senso de previsão que dentro de alguns anos aquelas edificações se tornariam acanhadas para atender ao desenvolvimento dos trabalhos do Instituto e ao número crescente de pesquisadores. Escusado dizer que se não enganava pois, o Manguinhos de hoje, com as suas novas construções e aquelas em andamento será 5 ou 6 vezes maior do que o planejado por OSWALDO e já se prevê que não tardará para que, mais vastos sejam ainda seus campos de pesquisas, requerendo maiores acomodações.

Tendo-se concluindo as plantas dos diferentes edifícios, em muito pouco tempo, determinou OSWALDO que as obras fossem todas a uma vez iniciadas e, de um momento para outro, aquele Manguinhos tão tranquilo, transformou-se numa rumorejante colmeia com os seus trezentos e tantos trabalhadores, numeroso maquinário e um chegar constante de material pesado que obrigou a construção de nova ponte, à beira-mar, bastante sólida para suportar toda a carga que tinha de ser desembarcada e conduzida para o alto da colina.

Escavado o terreno após nivelamento, em vários pontos, começaram a subir dos formidáveis alicerces, os panos das paredes das novas edificações.

Essas obras tão vultosas, embora feitas longe da cidade, não podiam ser levadas por diante sem que a burocracia se agastasse, porque não haviam sido autorizadas em lei e, OSWALDO, as estava realizando com as sobras das verbas da Diretoria de Saúde Pública. Êle estava perfeitamente ao par dos comentários que se faziam, porém não se preocupava muito com os mesmos e prosseguia. A grita cresceu , juntando-se a ela a da imprensa em grande parte contrária a OSWALDO por causa do seu código sanitário, denominado também código de torturas. O Mestre não era todavia homem que se ativesse a regras abstrusas quando se tratava de uma realização de extraordinária importância e utilidade para sua Pátria.

Foi assim, à revelia de decretos, criado o Instituto de Manguinhos e, talvez por isso mesmo, aí está sólido e, dia a dia, com mais prestígio próprio, pois representa uma força viva e o expoente de uma irreprimível maturação espiritual.

À medida porém que cresciam as formidáveis paredes dos vários edifícios, aumentavam também as recriminações contra OSWALDO; o Ministro se impressionou e resolveu observar pessoalmente o que havia. Era a primeira vez que vinha visitar o Instituto. Chegou pela manhã, começando sua inspeção pelo laboratório modesto e acanhado, cujo telhado ameaçava ruir mas, onde trabalhava sem descanso, aquele pequeno grupo de devotados à ciência. Percorreu depois as novas construções e, finalmente, foi inspecionar as obras grandiosas do edifício principal. Examinou-as e informou-se de tudo, minuciosamente, só não indagou com que dinheiro aquilo tudo estava sendo feito... Depois, parou, descansou e lançou os olhos para a mísera casinha em que nascera o Instituto a custo de tanto esforço, dedicação e sacrifício de todos; desviou a seguir a vista e foi pousá-la sôbre os blocos do grande prédio que OSWALDO estava edificando, não para si próprio, para seu conforto e glorias pessoais, nem para regalo daquele pugilo de discípulos conduzidos por êle, mas para gerações sucessivas de pesquisadores do porvir, com o único objetivo de aumentar o prestígio científico do Brasil e elevar sua cultura.

Êsse Ministro de Estado, o Dr. J. J. SEABRA, possuia um grande coração sensível capaz de auscultar e compreender os intuitos superiores das grandiosas iniciativas humanas.

Não teve uma palavra de recriminação para aquilo tudo que OSWALDO estava executando e, no seu íntimo, forçosamente emocionado com o que observara despediu-se, prometendo verbas do Congresso para conclusão daquelas obras arrojadas, e recomendando, "pro forma", que fossem as mesmas interrompidas afim de sopitar-se a grita dos opositores a OSWALDO, até que chegassem os créditos regulares.

Também "pro forma", as obras foram interrompidas por alguns dias, para recomeçarem em seguida com redobrado vigor e como antes, a custa de recursos provindos de sobras das verbas da Diretoria da Saúde Pública, que OSWALDO e PACHECO LEÃO, sucessor do inolvidável Dr. CARNEIRO DE MENDONÇA, na chefia do Serviço de Profilaxia de Febre Amarela, conseguiam economizar, sem ainda assim, reduzir a eficiência das atividades que lhes cumpria executar.

As verbas do Congresso chegaram um dia, tardiamente, quando a maioria das edificações estava concluida, e já se trabalhava também no artístico e primoroso edifício principal.

Uma espécie de tradição que se instituiu desde essa época em Manguinhos, instintiva e religiosamente cumprida, foi a de jamais se realizarem solenidades de lançamentos de pedras fundamentais e inaugurações festivas. E, desde OSWALDO até o presente, a mesma norma vem sendo observada. Uma vez concluidas as obras e as instalações e, às vezes, ainda muito antes de terminadas, vão os pesquisadores ocupando os laboratórios que lhes são destinados e prosseguindo seus trabalhos com o mesmo ritmo, em ambiente que lhes propiciam melhores rendimentos.

Enquanto dentro de Manguinhos trabalhavamos cercados de facilidades desconhecidas até então, e proporcionadas pela estadia de OSWALDO à frente da Saúde Pública, lá fora se consumia êle numa luta violenta, de injustiça e crueldade flagrantes, partida daqueles que tinham seus interesses contrariados pelas novas exigências do Regulamento Sanitário, tão benéfico para a coletividade a todos os respeitos.

A entrada dos "mata mosquitos" nas casas para esvaziarem os depósitos de água cheios de larvas do estegomia, as intimações para impermeabilizar o solo das casas afim de evitar ratos e pulgas vetores da peste, a supressão das alcovas nas casas, as determinações relativas às instalações sanitárias, a fiscalização dos gêneros alimentícios, a notificação compulsória dos casos de doenças infeto-contagiosas, e outras providências sanitárias inadiáveis, eram motivo para que se levantasse uma formidável campanha contra OSWALDO CRUZ, desde que assumiu a direção da Saúde Pública.

Em novembro de 1904 houve até a célebre mazorca de exploração político-militar tendo como pretexto a benemérita lei da vacinação obrigatório contra a varíola, ocasião em que a vida do grande sábio esteve em perigo.

Num infeliz gesto, quase toda imprensa se associou à grita dos que tinham seus interesses feridos pelas disposições do Código Sanitário e, desencadeiou a mais triste das campanhas de difamação que se possa imaginar entremeada de insistentes solicitações ao Govêrno para que o dispensasse do seu cargo.

Nessa época não eram, infelizmente, muitos os que estavam com OSWALDO: apenas os seus amigos íntimos, os discípulos de Manguinhos e da Saúde Pública, e uns tantos homens de bem que admiravam o modo desassombrado com que sustentava suas convicções pelo que lhe deram irrestrito apoio, tais como o Presidente RODRIGUES ALVES, o seu grande Ministro J. J. SEABRA e vários colegas entre os quais três grandes personalidades de S. Paulo, os Drs. EMILIO RIBAS, ADOLPHO LUTZ e PEREIRA BARRETO.

OSWALDO CRUZ, a êsse tempo, combatido, ridicularizado, insultado de todos os lados, não tinha muita gente consigo mas os que formavam com êle eram uma elite que valia por uma legião. Apesar de todas as lutas que tinha de sustentar na administração pública e contra aqueles cujos interesses feria com a aplicação de medidas sanitárias benéficas para o povo, OSWALDO não deixava de vir regularmente a Manguinhos. Entrava nos laboratórios quase sem fazer ruido e, às vezes, sem ser notado; observava os discípulos e depois passava a conversar com êstes, satisfeito por sentir seus continuadores cada vez mais seguros na resolução dos problemas que lhes estavam afetos e, por isso, deixava-lhes agora toda a iniciativa para que adquirissem confiança em si mesmos e pudessem orientar-se sòzinhos no campo das investigações científicas. Passados os períodos iniciais de aprendizagem, preferia que os discípulos escolhessem os assuntos em que desejassem trabalhar, seguindo suas próprias tendências científicas para a especialização futura e,

nesse terreno, animava todas as investigações que lhe eram sugeridas por aqueles que o cercavam, por saber melhor do que ninguem que, em ciência, não há assunto esgotado merecendo todos a atenção de quem tiver capacidade, tenacidade e inspiração para explorá-los.

Sentindo que reunira agora dentro de Manguinhos um pequeno grupo de moços perfeitamente treinados pelos seus métodos e capazes, retraiu completamente suas atividades de investigador consumado, considerando mais útil ao desenvolvimento da sua escola as vitórias de vários de seus discípulos àquelas de que êle próprio poderia facilmente, neste terreno, colher isoladamente todos os louros.

Foi dessa renúncia à sua maior glória pessoal por parte do Mestre, que resultou êsse Instituto tão cheio de prestígio científico, desde seus preliminares e, no qual, a personalidade para todo o sempre imperecivel do seu criador ressaltava da penumbra em que, voluntariamente se colocava, afastando-se dum ambiente para o qual possuia, no mais elevado gráu, todos os requisitos intelectuais e culturais que lhe permitiam agigantar-se ainda mais, realizando as descobertas que consagraram os seus discípulos.

O pequeno templo da ciência erigido numa das colinas da Fazenda de Manguinhos continuava a atrair novos crentes desejosos de fazerem ali o seu noviciado científico.

De 1904 a 1907 foram chegando Rodolpho Abreu, Borges da Costa, Affonso Mac Dowel, Gomes de Faria, Parreiras Horta, Raul de Almeida Magalhães, Rubens de Campos, Arthur Neiva, João Pedro de Albuquerque, Pires Salgado, Arthur Moses, Aleixo de Vasconcelos, Eduardo Marques, Jayme Aben-Athar, Antonio Periassú, José de Mendonça, Thompson Motta, Francisco Catão, Abreu Fialho, Octavio Rego Lopes, Jesuino Maciel, Leão de Aquino e Almada Horta.

Muitos dêstes eram estudantes de Medicina que almejavam fazer suas teses sôbre assuntos originais, outros, médicos já feitos, vinham em busca de conhecimentos sôbre problemas experimentais ou, da ilustração necessária para os concursos do serviço de Saúde Pública.

Dentre os que vieram a Manguinhos desde seus primeiros tempos até 1907, alguns eleitos foram integrados definitivamente por Oswaldo à sua Escola, os outros, em geral, confirmaram nos caminhos vitoriosos que tiveram na vida, as vantagens da sua passagem pelo Instituto para o aprimoramento de suas qualidades intelectuais e morais.

Os trabalhos realizados em Manguinhos até 1906 versaram pirncipalmente sôbre assuntos de Hematologia, Sorologia, Bacteriologia, Parasitologia, Anatomia patológica, Entomologia, ainda sem uma orientação definida para especializações, mas, a partir dêsse ano, começaram os discípulos a seguir rumos mais fixos em relação aos assuntos de que cuidavam e, em conseqüência, esboçam-se as futuras tendências de cada qual no domínio das ciências.

Para que os técnicos que começavam suas especializações não se fossem precocemente alheiando aos outros assuntos de interesse geral ao Instituto, resolveu Oswaldo, estabelecer sessões semanais, às quar-

tas-feiras, para serem resumidos os artigos científicos mais interessantes, que fossem aparecendo nas revistas especializadas, trabalho de que também participava. Escolhia ainda e descriminava os artigos a quem competia resumí-lo.

As sessões eram realizadas à noite, a princípio em sua residência à rua Voluntários da Pátria e depois, também à noite em Manguinhos, quando se tornaram mais numerosos os que tomavam parte. Uma vez ou outra havia, ao começar a sessão, uma pequena conferência de um dos técnicos, sôbre assunto em que tivesse maior conhecimento. Essas reuniões, por vezes, se prolongavam muito, tornando-se um pouco cansativas a todos, menos para OSWALDO que se mantinha atento até o final.

A liberdade de iniciativa concedida por OSWALDO aos componentes do que êle chamava o seu "jardim da infância da ciência" porquanto nenhum tinha atingido aos trinta anos e, o trabalho intenso assim realizado, anos a fio, resultou na execução de numerosos trabalhos científicos, alguns dos quais de valor especial e notavel pela importância teórica e prática, os quais foram por isso considerados como trabalhos clássicos, da Instituição. Os primeiros a surgirem, após a primeira meia duzia de anos de vida do Instituto, foram a vacina contra a peste da Manqueira salvadora dos rebanhos nacionais, o ciclo exo-eritrocitário endotelial verificado no hematozoário do pombo denominado "Hemoproteus", o estabelecimento de um diagnóstico preciso da febre pelas lesões do fígado, a vacinação contra a espiroquetose das galinhas, com a técnica original do emprego do formol para matar os espiroquetos e, acompanhando êstes, toda uma série de investigações, entre as quais salientavam-se as sôbre novos gêneros e espécies de mosquitos, sôbre Tuberculina, Sorologia, Bacteriologia, Hematologia e Parasitologie.

Com êstes trabalhos, em tão variados assuntos, realizados por tão pouca gente pesquisando com ânimo infatigável, horário sem limite e entusiasmo verdadeiro, começou a avolumar-se o patrimônio científico do Instituto que foi assim alteando cada vez mais seu prestígio, não só no Brasil como também no estrangeiro, onde suas publicações iam sendo elevadamente conceituadas pelos especialistas, dada a confiança que inspiravam os trabalhos já realizados pelos discípulos do Instituto.

Já agora foram sendo requisitados os técnicos do Instituto por parte de govêrnos e de instituições particulares afim de traçarem planos de serviços e executarem campanhas profiláticas.

OSWALDO ia atendendo, na medida do possível, as solicitações que lhe eram feitas.

O Govêrno do Estado do Maranhão desejava um especialista para cuidar do problema da peste que invadira a capital do Estado e, OSWALDO enviou HENRIQUE MARQUES LISBÔA, antigo discípulo, substituindo-o algum tempo depois por EZEQUIEL DIAS e finalmente êste por CARDOSO FONTES. E, do trabalho eficiente dêsses três elementos da sua grei resultou a debelação, naquele Estado, do mal levantino, por volta de 1906.

A companhia Docas de Santos solicitou um técnico para fazer a profilaxia do paludismo nas suas oficinas em Itatinga e, em conseqüência, CARLOS CHAGAS foi designado para debelar o mal e o fez com todo o sucesso.

Depois, cêrca de 1906, o Govêrno do Estado de Minas manifestou a OSWALDO o desejo de montar um laboratório em Belo Horizonte e, após vários entendimentos, ficou resolvida a criação da primeira filial de Manguinhos de cuja direção e organização foi incumbido EZEQUIEL CAETANO DIAS que ali trabalhou, sem descanso, durante vinte anos, tendo por fim esta filial se transformado em um Instituto autônomo que, em homenagem ao seu primeiro Diretor, recebeu o nome de Instituto Ezequiel Dias.

De outra feita foi a Diretoria da Estrada de Ferro Central do Brasil que, tendo em mira o prolongamento de sua linha até Pirapora, em 1907, solicitou a OSWALDO um dos seus discípulos para encarregar-se da profilaxia do paludismo na zona a ser aberto o novo ramal, sendo indicado para essa missão, CARLOS CHAGAS que aí se notabilizou mais tarde, com a descoberta da Tripanossomiase americana.

O Instituto foi-se dêste modo impondo cada vez mais à confiança pública e ao conceito dos meios científicos e, ao atingir o ano de 1907, seus rumos futuros estavam já definitivamente assegurados, firmando-se cada vez mais, desde então, através de suas inúmeras investigações originais e realizações práticas.

OSWALDO poderia satisfazer-se com os resultados até então alcançados pela sua plêiade brasileira congregada naquela modesta casinha em que criara sua escola e na qual, tudo parecia um tanto misterioso para os leigos, até êsse nome de Instituto de Manguinhos que lembra um terreno salitrado e lamacento, povoado de caranguejos e capaz de atascar o afoito que naquele solo se aventurasse. Nas mãos de OSWALDO porém, Manguinhos ia-se tornando cada vez mais sólido, com um futuro cada vez mais radiante e firme e assim recompensando-lhe o labutar intenso durante os longos horários. Sentia-se que tudo ia bem e, com as mais fagueiras esperanças, chegamos então ao ano de 1907, que marcou etapa decisiva para OSWALDO e para o Instituto.

Depois de três anos de porfiada luta, 1904-1907, estava enfim dominada a febre amarela e a peste reduzida a quase nada, na cidade do Rio de Janeiro e aquela reforma da Higiene que, tantos e tão injustos ataques tinha provocado contra OSWALDO, durante êsses anos passados, estava dando os melhores resultados.

Os inúmeros opositores do começo, haviam quase todos desaparecido, tão evidentes eram os resultados do saneamento do Rio e de outras cidades do Brasil, em virtude do acerto das medidas postas em prática com energia continuada e sem desfalecimentos.

Em 1907, o Brasil, cuja fama de possuir um Instituto de Medicina Experimental e organização de Serviço de Higiene, muito adiantados, havia-se espalhado pelo mundo, foi convidado a fazer representar-se

na Exposição Internacional de Higiene, em Berlim. Cêrca de 123 expositores, de 20 países concorreram, entre os quais figurou o Brasil.

OSWALDO foi designado pelo Govêrno, em começos de 1907, para chefiar a delegação brasileira, cujos outros membros eram SALES GUERRA, ROCHA LIMA, ABREU FIALHO, OSCAR DE SOUZA e LUIZ MORAIS.

Partiu OSWALDO algum tempo depois para a Alemanha levando valioso mostruário de produtos e documentos da organização, tanto de Manguinhos como da Saúde Pública, sendo o vultoso material exposto numa grande sala, no Reichstag, concedida ao Brasil.

Aí se via, muito bem apresentado, tudo o que possuíamos: soros, e vacinas diversas, entre as quais a da manqueira e da esperiquetose das galinhas, estampas e preparações com o ciclo exoeritrocitário do hematozoário do pombo — "Hemoproteus columbae", peças anátomo-patológicas de peste e febre amarela e de outras moléstias tropicais, coleções de mosquitos, mutucas, carrapatos, vermes parasitos, gráficos e fotografias sôbre os métodos usados nas campanhas contra o paludismo, febre amarela, peste bubônica e sôbre outros problemas investigados, no Brasil, e, entre o abundante e variado material exposto estavam incluidas finalmente, as maquetes dos novos edifícios construidos para Manguinhos e para a Saúde Pública.

A exposição do Brasil causou viva surpresa e a maior admiração aos que a visitaram, despertando imenso interesse não só aos leigos, como aos clínicos, pesquisadores e higienistas, sendo considerada a melhor.

Recebeu, então, OSWALDO, as efusivas e gerais congratulações, na Alemanha, por sua grande realização em pról da ciência e da Saúde Pública, no Brasil.

Reunido o juri da Exposição foi concedido, ao nosso País, o primeiro prêmio — a medalha de ouro, doada pela Imperatriz da Alemanha. Recebendo emocionado êsse laurel, êle sentiu-se desvanecido pela consagração dos seus ingentes esforços no afã de elevar o renome da sua Pátria, logo porém, seu pensamento voltou-se para seus discípulos e a todos agradeceu a colaboração que lhe haviam prestado.

Em Berlim, sábios como PROWAZEK, HARTMANN e GIEMSA, entusiasmados com o que se fazia no Brasil, manifestaram a OSWALDO o desejo de conhecer o Instituto e os colegas brasileiros que ali trabalhavam.

Foram então estes três cientistas convidados por OSWALDO para virem prestar sua colaboração por seis meses ao Instituto e êle só tomou essa resolução depois que seus discípulos já haviam revelado suas capacidades para resolverem sòzinhos originais questões de Medicina Experimental e Higiene pelos próprios esforços e sagacidade para as investigações.

Com esta brilhante vitória lograda no seio de um congresso internacional integrado por países de velha civilização e cultura, patenteava-se ao mundo o elevado padrão dos pesquisadores brasileiros e acima de tudo, do Mestre, no domínio da Medicina Experimental.

A partir de 1907 começou OSWALDO a enviar os pesquisadores do Instituto à Europa e aos Estados Unidos para visitarem as instituições congêneres e se aperfeiçoarem em suas especializações nos assuntos do particular interesse científico de cada um, porém tomou essa resolução sòmente depois que seus discípulos haviam adquirido por seus estudos e trabalhos próprios, uma sólida competência, na matéria, de modo que, em permuta aos conhecimentos que iriam haurir também pudessem transmitir outros, desconhecidos, aos pesquisadores, nos meios científicos que visitavam.

Por êsse motivo, os técnicos do Instituto sempre foram muito considerados e bem recebidos nos institutos que frequentaram fora do seu País dadas estas credenciais que levavam.

Os primeiros discípulos, a irem ao estrangeiro, entre os anos de 1907 a 1908 foram ROCHA LIMA para a Alemanha, VASCONCELLOS para a França, ARAGÃO para a Alemanha e França, NEIVA para os Estados Unidos, FONTES para a Alemanha e GODOY também para a Alemanha.

Depois, muitos outros realizaram viagens de estudos e aperfeiçoamento no estrangeiro, mantendo-se sempre a tradição de se enviarem apenas os elementos de capacidade já comprovada por trabalhos anteriores, de vez que a iniciação dos pesquisaodres competia ao Instituto fazê-la.

Era OSWALDO dotado de acendrado amor à sua Pátria e jamais deixara de reconhecer e exaltar a capacidade dos brasileiros no terreno das pesquisas científicas sôbre os mais transcendentais problemas, uma vez que se lhe fornecessem os elementos que os pudessem estimular ao trabalho porfiado cônscios da responsabilidade das suas iniciativas. Em cartas dirigidas a ROCHA LIMA encontram-se frases como estas: "Nada há que resista ao trabalho"; "Trabalhemos porque não conheço cousa alguma que resista ao trabalho sério pertinaz e útil"; "Havemos de demonstrar que nossa Pátria não é inferior a dos outros", tópicos estes que são confirmadores do seu elevado e patriótico modo de pensar. Possuia o Mestre ainda, no mais alto gráu, as qualidades do orientador prudente e vigilante e sabia incitar os seus discípulos a não se deterem pelo temor do insucesso, horror às responsabilidades e imensidade dos empreendimentos.

Nas horas difíceis, estava sempre ao nosso lado dando as mais sinceras provas da sua absoluta confiança em nossos trabalhos. Assim, ao simples estudante de Medicina, que no limiar das suas atividades no Instituto, sacrificara, certa vez, um cavalo, o animal mais precioso que então possuiamos, êle, após verificar que a técnica usada fôra certa, mandou fornecer outros animais para que o trabalho não sofresse retardamento.

Deu-se numa fazenda Mineira, imprevisto insucesso com a vacina contra o carbúnculo sintomático, a popular peste da Manqueira, na sua primeira demonstração pública.

Os discípulos designados para realizarem a prova, desolados com a ocorrência, consultam o Mestre; êste os mandou regressar afim, de

examinar, em Manguinhos, a causa da ineficácia. Descoberta qual foi a razão da falta de êxito ordena-lhes a volta ao mesmo local afim de serem praticadas novas inoculações, pois tinha a certeza de que a vacina, cujas experiências acompanhara dia a dia em Manguinhos, era absolutamente inócua e de perfeito poder imunizante.

Descoberta e rapidamente afastada a causa, são as novas inoculações coroadas do mais satisfatório resultado, desde então jamais desmentido.

Certa vez, ao discípulo que considerava necessária sua opinião e visita à uma zona para a qual fôra encarregado de realizar árdua campanha profilática contra o paludismo, OSWALDO logo replica: "não é necessário que eu vá, você resolverá tudo, acertadamente".

Esta confiança absoluta que depositava em seus discípulos confortava-os a cada momento e incentivava-lhes a tudo fazerem para merecê-la, integralmente.

Após o retumbante sucesso de Berlim, em 1907, que consagrou brilhantemente seu trabalho e cobriu-o de louros, OSWALDO, voltando ao Rio, foi recebido com extraordinárias manifestações de apreço por parte do Govêrno e do povo.

Seu nome foi dado, como de costume em tais casos à uma avenida; houve palmas e hurras nas ruas por onde passou dirigindo-se de regresso à sua residência; seu retrato apareceu em todos os jornais enquadrado pelos artigos laudatários. Proclamavam-no redentor do Brasil daquele triste labéu de país de febre amarela a maior barreira ao progresso da Nação. Seu nome foi colocado no mesmo plano que o de CAXIAS, RIO BRANCO, RUY BARBOSA e outros brasileiros ilustres, pelos serviços prestados à Pátria.

Avaliaram em centenas de milhões de Cruzeiros os benefícios trazidos ao País e, chegaram a dizer que era merecedor de uma estátua de ouro, o que, o que não impediu se esquecesse o Congresso de votar um modesto prêmio de duzentos mil Cruzeiros, ao solicitar OSWALDO que se conferisse a Manguinhos, um pequeno patrimônio que lhe assegurasse, com a renda, uma certa estabilidade financeira para a execução dos seus elevados e humanitários objetivos.

Todos sentiram a injustiça e a incongruência de uma tal atitude, mas OSWALDO estava habituado às reviravoltas das opiniões humanas e não se molestou com mais uma.

Apesar de tudo, tivemos a sensação de que, com a vitória alcançada em Berlim, mais dia menos dia, o nosso amanhã tão incerto até então, tornar-se-ia estável num futuro ainda não definido mas, certamente próximo, o que de fato veio a acontecer em 12 de dezembro de 1907 quando, o Instituto foi oficializado por lei do Congresso, sancionada pelo Presidente AFFONSO PENA, sendo-lhe substituido o onme de Instituto Soroterápico Federal pelo de Instituto de Medicina Experimental de Manguinhos, êste mesmo modificado para Instituto Oswaldo Cruz, em homenagem ao Mestre, por ocasião de ser expedido seu Regulamento e feitas as nomeações do pessoal, a 19 de março de 1908.

A lei concedeu autonomia ao Instituto, separando-o da Saúde Pública, à qual estivera até então dependente, subordinando-o diretamente ao Ministro da Justiça e Negócios Interiores.

Ao tempo desta sua organização definitiva, o corpo técnico do Instituto ficou constituído por: OSWALDO CRUZ diretor, HENRIQUE FIGUEIREDO DE VASCONCELOS e HENRIQUE DA ROCHA LIMA chefes de serviço, ALCIDES GODOY, ANTONIO CARDOSO FONTES, ARTHUR NEIVA, CARLOS CHAGAS, EZEQUIEL DIAS e HENRIQUE ARAGÃO, assistentes.

Êstes nove elementos ficaram sendo considerados os fundadores do Instituto.

A êles se deve, com justiça, juntar o nome de JOSÉ GOMES DE FARIA que, na reforma de 1908, por ter sido limitado o número de técnicos, teve de se contentar, para continuar no Instituto, com o cargo administrativo de escirturário-arquivista o qual, felizmente, por ser pouco trabalhoso na época, deixava-lhe bastante tempo para que atendesse aos seus grandes pendores para as investigações e o estudo dos mais variados problemas experimentais.

O número total de servidores do Instituto em 1908 não ia além de 28 e, seu orçamento era de Cr$ 331.240,00, sendo Cr$ 191.240,00 para pessoal e Cr$ 140.000,00 para material.

Modestíssima verba para uma repartição que já desfrutava de grande projeção no cenário científico mundial e dirigida por um homem que prestara à sua Pátria serviços de valor incalculável, mas a quem apenas se concedera um vencimento mensal de Cr$ 1.500,00, que o forçava viver com sua numerosa familia num regime da mais estrita economia, da qual deixou uma documentação comovente nos seus detalhes!

OSWALDO jamais se queixava da sua modesta situação financeira nessa época, não faltando quem, por isso, atribuisse suas atitudes nobres e desassombradas ao fato de ser um homem rico.

Esta situação não o alterava absolutamente, porquanto apenas lhe comprazia servir à Pátria e realizar o altaneiro ideal da sua vida — a criação de um grandioso centro de investigações científicas nos domínios da Biologia e da Medicina Experimental e, poder manter, junto a si aquele pugilo de discípulos que tanto o haviam auxiliado a alcançar a sua vitória decisiva.

Nós, os discípulos, tinhamos todos os motivos para nos considerarmos satisfeitos pois haviamos correspondido à confiança do Mestre e, como nossa situação estivesse então assegurada, poderiamos continuar a dedicar-nos às investigações científicas para as quais nossa vida já se havia orientado.

Não tardou muito porém que uma nuvem sombria viesse toldar o horizonte transparente dêsse momento feliz e despreocupado de nossa vida.

Foi assim que, em meados de 1908, se foram tornando visíveis os sinais de que a saúde de OSWALDO se achava séria e definitivamente

comprometida. Nada dizia êle, não se queixava, nem desejava que se comentasse, mas há muito sabiamos se vinha debilitando lentamente: uma constante albuminúria, dispepsia tenaz, distúrbios circulatórios, sensibilidade exagerada ao frio, insônia, pequenos edemas e outras manifestações mórbidas menos definidas, não deixavam dúvidas.

Não demorou muito a confirmação do previsto diagnóstico, através de uma crise de pequena uremia que foi ràpidamente jugulada com a intervenção do seu médico e grande amigo SALLES GUERRA. Os rins de OSWALDO estavam porém irredutivelmente lesados, o que significava uma redução certa do seu ciclo vital, tão precioso para todos.

Procuravamos iludir-nos a princípio admitindo que o mal viesse a evoluir muito lentamente, mas essa primeira crise séria nos advertia do contrário e ademais tinhamos certeza de que OSWALDO não imploraria clemência alguma a êsses rins que seriam seus carrascos, submetendo-se a regimes cuidadosamente controlados e, sobretudo ao repouso e abandono de suas atividades tão queridas.

Um completo homem de ação como os da sua têmpera vive perigosamente na rota que seu ideal lhe traçou, indiferente aos males físicos contingentes à natureza humana.

Aliás, as doenças e os acidentes estão um pouco fóra das cogitações dos homens que trabalham nos laboratórios de pesquisas.

Quando estão presentes fazemos tudo por ignorá-los para que não perturbem nossas atividades e, vamos procurando caminhar sempre um pouco para além sem prestar muita atenção às sobrecargas mórbidas que sob várias formas também não têm aos discípulos poupado e, igualmente, aos nossos auxiliares, sempre tão dedicados.

Ninguem fala de seus males, ninguem se queixa; há um certo pudor para os sofrimentos físicos. O exemplo nos vinha do Mestre, êle estava sempre conosco como se nada o afetasse.

Em começos de 1908, OSWALDO atraiu para Manguinhos o extraordinário sábio brasileiro ADOLPHO LUTZ que, durante 25 anos, dirigira o Instituto Bacteriológico de São Paulo, onde realizara uma série de importantíssimos trabalhos sôbre os mais variados assuntos de Bacteriologia, Micologia, Protozoologia, Helmintologia, Anatomia patológica, Entomologia e Moléstias tropicais.

LUTZ era o protótipo dêsses cientistas hoje cada vez mais raros que aliam uma profunda cultura geral à uma soma formidável de conhecimentos especializados e, além do mais possuia uma capacidade de trabalho inesgotável. OSWALDO tinha por êle uma profunda admiração que era compartilhada por quantos estavam em condições de apreender o seu valor pessoal e apreciar os seus eruditos e originais ensinamentos.

Não fez muitos discípulos, mas os que lhe sairam das mãos se tornaram figuras de elevada classe como VITAL BRASIL, THEODORO BAYMA, ADOLPHO LINDENBERG, ANGELO DA COSTA LIMA e GUSTAVO DE OLIVEIRA CASTRO.

ADOLPHO LUTZ integrou-se perfeitamente na vida de Manguinhos onde permaneceu por 25 anos, trabalhando sempre nos mais variados assuntos e publicando uma soma formidável de valiosos trabalhos originais que enriqueceram sobremodo nosso patrimônio científico.

Em meados de 1908, vieram trabalhar no Instituto, STANISLAS VON PROWAZEK e G. GIEMSA e, um ano depois, MAX HARTMANN, notáveis cientistas que, admirados com os trabalhos apresentados por Manguinhos na Esposição de Berlim, manifestaram a OSWALDO o desejo de virem ao Brasil afim de conhecerem a instituição e trabalharem com seus colegas brasileiros.

VON PROWAZEK se destacava pela cintilante inteligência e invulgar cultura.

Foi mutuamente útil a presença dêsses pesquisadores entre nós porque, si eram versados em muitos assuntos com os quais não estavamos familiarizados, conheciamos outros próprios ao nosso País em que não estavam ao corrente e, havia ainda matérias em que nem nós nem êles tinhamos experiência e às quais nos dedicamos juntos, tais como as referentes a certos protozoários parasitas de peixes, à citologia de protozoários nossos,às investigações sôbre o plancton da baía da Guanabara e ao vírus da variola — "Chlamidozoon variolae", que foi objeto de aprofundados estudos nessa época, trabalhos êstes realizados numa agradável atmosfera da melhor camaradagem.

Prevendo o desenvolvimento e utilidade dos estudos de hidrobiologia marinha, OSWALDO mandou então construir um pequeno aquário que por deficiências técnicas não chegou a funcionar sendo substituido muitos anos após seu falecimento, pela Estação de Hidrobiologia de Manguinhos construida na ilha do Pinheiro muito próxima ao Instituto.

Em princípios do ano de 1908, estava CARLOS CHAGAS em Lassanse, Estado de Minas Gerais, fazendo a profilaxia do impaludismo endêmico na região, em virtude de pedido feito ao Instituto, pela Diretoria da Estrada de Ferro Central do Brasil, quando, examinando um Hemíptero ali abundante e vulgarmente conhecido pelo nome de "barbeiro" e cientificamente designado "Triatoma", descobriu que êstes sugadores de sangue se achavam parasitados com um flagelado na fase de critídeas. Tendo enviado barbeiros a OSWALDO êste os fez picar saguis que depois se revelaram infectados com um tripanossoma de morfologia muito especial que CHAGAS estudou, exhaustivamente dando-lhe o nome de "Tripanossoma cruzi" em homenagem ao mestre. Êsse tripanossoma revelou-se capaz de infectar numerosos animais domésticos e silvestres sendo que alguns dêstes como o tatú são seus hospedeiros habituais, encontrando-se também os barbeiros transmissores em suas locas terrestres.

Os "barbeiros" podem ser encontrados em vida silvestre, todavia são mais freqüentes e abundantes nas misérrimas habitações rurais de muitas regiões do País, localizados nas frestas das paredes simplesmentes barreadas e também, em outros locais que lhes propicie sugar o sangue do homem, ou ainda de animais domésticos.

Estas verificações abriram logo caminho para que CHAGAS, um ano após, encontrasse o mesmo Tripanossoma no sangue de uma criança visivelmente doente e depois em outros pacientes com manifestações mórbidas diversas, sobretudo cardíacas. Surgiu assim uma nova tripanossomíase — a "Moléstia de Chagas" que também é hoje conhecida pela denominação de Tripanossomíase americana por ser comum a quase toods os países do Continente Americano.

A descoberta da tripanossomíase teve, como era natural, a maior repercussão no mundo científico e valeu a CHAGAS ser galardoado com o prêmio Schaudinn, criado em homenagem a memória do grande cientista alemão para recompensar descobertas de excepcional valor nos domínios da Protistologia.

Aumentava-se desta forma, o já então grande prestígio científico do Instituto.

A OSWALDO desvanecia sobremodo formar continuadores capazes das realizações já anteriormente feitas e acrescidas agora com a descoberta de uma entidade nosológica da relevância da Tripanossomíase americana.

Convocou então, e conduziu a Lassance uma plêiade de médicos do Rio integrada de vultos como MIGUEL COUTO, JULIANO MOREIRA, MIGUEL PEREIRA, ANTONIO AUSTREGESILO, FERNANDES FIGUEIRA e FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, afim de examinarem os diversos casos da moléstia, apresentados pelo seu descobridor.

Todas essas sumidades voltaram entusiasmadas com os aspectos clínicos e parasitológicos da nova entidade mórbida. Confirmava-se desta forma, a consagração ao grande feito de um discípulo de Manguinhos, nos domínios da patologia humana.

A vida de OSWALDO continuava transcorrendo, como de costume, trabalhosa e cheia de preocupações e, embora os seus males físicos se agravassem cada dia um pouco mais, não lhes prestava êle maior atenção, sòmente abordando o assunto, incidentemente, com o seu médico e grande amigo SALLES GUERRA, ao qual narrava de viva voz ou através de correspondência, os seus sofrimentos sem insistir porém, muito no assunto.

Sabendo incurável o mal que o minava, conformava-se com a situação, aguardando com absoluta calma o desenlace fatal dentro de alguns anos. Quase nada fazia para retardar essa marcha inexorável para a morte precoce, no que dizia respeito a regimes, repouso ou à vida em clima propício e mais ameno que o do Rio e, nestas condições, não era de esperar que seu viver fosse longo.

Como se não fosse um doente, mantinha o mesmo ritmo de trabalho tanto em Manguinhos como na Saúde Pública; vinha sempre conosco, pela manhã, às 8 horas, na lancha a vapor que nos conduzia ao Instituto.

A viagem era muito agradável e cômoda. Partiamos do cais do Pharoux, atravessavamos o canal entre a Ilha das Cobras e o Arsenal de Marinha e aproavamos para a ponta do Cajú deixando à esquerda,

à grande distância os bairros da Saúde e S. Cristovão e lá iamos, navegando entre os navios surtos no porto — os de guerra, os grandes paquetes a nos fazerem sonhar em viagens ao estrangeiro e os elegantes veleiros com três a seis mastros altos cheios de velas que o vento enfunando os fazia deslizar magestosamente sôbre as águas plácidas da baía de Guanabara.

Passavamos pela Ilha dos Ferreiros, toda preta, com seus montes de carvão de pedra e logo depois alcançavamos a Ponta do Cajú, divisando o Hospital de S. Sebastião, com seus grandes pavilhões de isolamento espalhados morro acima.

A seguir a lancha passando perto de uma pitoresca colônia de pescadores entrava no Saco do Cajú ao fundo do qual estava situada a Fazenda de Manguinhos. Aquí, a navegação requeria cuidado, especialmente nas marés rasas, pois só se podia passar, e assim mesmo com dificuldade, por um estreito canal, que ao fim ia ter à ponte do Instituto.

Nas marés extremamente baixas, no final do trajeto, a lancha navegava praticamente na lama e a atracação era difícil exigindo milagres de habilidade do seu mestre — o TABÔRDA.

Durante a viagem conversava-se sôbre os acontecimentos mundiais do momento, as ocorrências na política do dia, apreciava-se a paisagem, liam-se jornais ou disputavam-se partidas de xadrez, em carteirinhas jogo êsse que OSWALDO apreciava porém, no qual, nenhum de nós era forte, praticando-o apenas como mero passatempo.

Uma vez desembarcados na ponte, encontravamos um trole tirado por dois cavalos para o qual subiam os mais graduados, superlotando-o e, seguiam os demais a pé por um caminho pitoresco e sombreado, que contornava a colina onde existia a segunda casinha da Fazenda e, depois, galgava-se a outra elevação. Chegando-se ao Instituto, cada qual tomava seu rumo depois de saborear uma chícara de café para animar as atividades. Estas, se desenvolviam com muito entusiasmo, longuíssimos horários e alguma inspiração. Graças à ação combinada dêsses elementos foram surgindo os trabalhos originais, de Manguinhos, alguns dos quais de cunho fundamental, tendo permanecido por isso até hoje intangíveis como valiosas gemas do seu patrimônio científico.

Diga-se de passagem que nem todas as descobertas eram dêsse teor, algumas mesmo, como as rosas murchavam logo mal entreabertas entre comentários jocosos a partir do próprio autor.

OSWALDO possuia um dom especial para sentir o que estava certo ou não; no primeiro caso alegrava-se mais que nós mesmos porém, quando examinando algum resultado de nossos trabalhos nos dizia com os seus modos suaves que seria bom verificar o fato novamente, ficavamos de sobreaviso e, quase sempre a razão estava com êle. Estacionava-se então a descoberta para melhor oportunidade e o remédio era dar novo rumo às investigações.

Logo que chegava ao Instituto, OSWALDO passava a inteirar-se de tudo; visitava os diversos serviços e os laboratórios, ouvia os auxiliares

e técnicos a respeito das suas atividades e de suas opiniões; fazia sugestões e tinha sempre uma palavra de animação para o trabalho de cada servidor.

Quando havia ainda poucos auxiliares no Instituto e êle via um dos técnicos ou um simples estudante em dificuldade para realizar sòzinho um dado trabalho logo ia ajudá-lo e muitas vezes o vimos segurando um cabrito ou um coelho para facilitar a sangria ou a inoculação. Outras vezes preparava um aparelho para a experiência em curso e se ia assistir a uma autópsia tomava a si escrever o protocolo a medida que o anatomo patologista trabalhava no cadaver. Todos estes serviços êle os prestava despretenciosamente com o mais cativante espírito de cooperação. Também agradava-lhe muito ver um de nós sacrificar alguns instantes de seu trabalho próprio para auxiliar um companheiro em uma eventual dificuldade no decurso de uma pesquisa ou trabalho de rotina.

Oswaldo quando observava alguma falha chamava com brandura a atenção para a mesma e com seus modos afáveis conseguia em geral os melhores resultados mas, também sabia ser enérgico quando necessário.

A vida em Manguinhos era muito agradável aos dotados de verdadeira vocação para pesquisas, dada a liberdade para as realizações. Não se conclua daí que era um céu completamente aberto, porquanto por sermos humanos, com mentalidades e formações diferentes, tinhamos também nossas pequenas discordâncias até mesmo com Oswaldo a quem as expunhamos com a absoluta franqueza e lealdade que êle muito apreciava. Jamais porém, se verificou divergência de importância ou duradoura e, logo, um surto de sensatez e bom entendimento vinha restabelecer a calma na operosa colmeia, retomando cada qual sua tarefa e esvaindo-se desta forma e totalmente as tempetsades de copo dágua.

Não deixava Oswaldo de dar também sua vista d'olhos às obras em andamento em Manguinhos, observando-as minuciosamente e cuidando com desvelo, para que saissem perfeitas e bem acabadas. Algumas das edificações, iniciadas em 1904, já estavam terminadas e em serviço entre elas o pavilhão para peste, a nova cocheira e os biotérios que eram amplos, apropriados aos fins destinados e dotados de todos os aperfeiçoamentos técnicos, além da solidez à toda prova, fácil de obter-se num tempo em que a barrica de cimento inglês, de 150 quilos, custava sete Cruzeiros e os melhores tijolos prensados chegavam de Marselha por quarenta Cruzeiros o milheiro e, assim, os preços de todos os outros materiais iam pela mesma bitola.

Quanto ao edifício principal em vista do tamanho avantajado e pelo acabamento esmeradíssimo foi mais lenta sua construção. Embora o arcabouço e várias partes já estivessem prontas em fins de 1908, só um ano depois foi possível ser posto em serviço, com quase todas as dependências completamente acabadas.

Era um bloco imponente, de uma beleza de linhas sem igual, com os seus cinco pavimentos, a larga fachada voltada para o mar e com trinta metros de altura, nas torres. Todas as paredes do porão foram executadas em granito retirado da própria pedreira de Manguinhos, cortado em grandes blocos retangulares, perfeitamente rejuntados uns aos outros. Sôbre elas superpunham-se os quatro pavimentos em estilo mourisco modernizado, com varandas, arcadas, colunas e arabescos variados, do mais belo aspecto.

Escadarias externas, de granito nas fachadas anterior e posterior do prédio davam acesso ao segundo pavimento, onde estava situado o "hall" do edifício, em que começava a escada bem lançada, em ferro forjado, com largos degráus de mármore e corrimão de metal amarelo a qual atinge até o quarto pavimento, sendo o seguinte accessivel pelo elevador e a escada de serviço.

O vestíbulo tinha as paredes elevadas até o quarto pavimento onde terminava num teto formado por um lindo vitral com desenhos mouriscos em cores vivas. As paredes dêsse vestíbulo eram revestidas de estuque de gesso, de cor crême, finamente rendilhado em variados motivos mouriscos e recobertos em grande parte por folhetas de ouro, dando ao conjunto grande realce e beleza artistica.

A estrutura externa do edifício, acima do 1.º andar, foi construida com tijolos vermelhos de Marselha havendo espaços ocupados por placas de gesso entalhadas em variados motivos, obedecendo ao estilo do prédio.

A fachada principal era de notável beleza com os seus arcos, varandas, lampadários e um rendilhado de arabescos, tudo em estilo mourisco de magnífico efeito decorativo sendo, a posterior do prédio muito mais simples em elementos decorativos tanto nas varandas como nos arcos, paredes e tetos.

O piso das varandas da fachada principal foi revestido com mosaicos de cerâmica no estilo geral assim como os ladrilhos vidrados das paredes.

As paredes laterais do edifício apresentavam menos decorações não existindo alí varandas nem arcadas e colunas.

As janelas do pavimento terreo eram pequenas retangulares, protegidas por grades de ferro atrás das quais havia uma parte em vidro destinada a ser aberta para dar entrada ao ar e à luz e as do segundo ao quarto pavimentos largas e altas para acompanhar o elevado pé direito do edifício e feitas em ferro forjado emoldurando placas de vidro fosco.

As altas portas do edifício foram artisticamente trabalhadas em peroba amarela espessa, lindamente entalhadas em plena madeira com variados motivos mouriscos e providas de grades de ferro forjado ao centro, na altura média e superior.

No quarto pavimento a porção construida, ocupava apenas o centro do edifício sendo, mais baixa e simples que os três abaixo. Havia neste pavimento vários quartos para o pernoite dos técnicos, inclusive para Oswaldo, sendo o resto ocupado por grandes terraços descobertos à

cuja frente se erguiam torres com as suas cúpulas recobertas por lâminas de cobre às quais a patina do tempo deu um colorido esverdeado. Na parte média das cúpulas existem, aberturas circulares protegidas por vidros fôscos donde brotavam fachos de luz quando acesos os focos de iluminação interna destinados a êsse fim. Aliás o edifício com todas as suas lâmpadas acesas, à noite, ressaltava belíssimo em meio ao vasto terreno deserto e mergulhado na mais profunda escuridão que o cercava, naquela época.

A forma geral dada a grande construção de Manguinhos, foi a de dois corpos paralelos de edifícios ligados entre si por um terceiro constituindo um agá, cujo ramo transverso situava-se muito próximo à fachada anterior do prédio e possuindo na parte média, adiante e atrás duas saliências correspondentes sendo que, naquela situada para o lado da fachada posterior foram dispostos os banheiros e aparelhos sanitários do prédio.

Entre o quarto e o quinto pavimentos, havia, um grande espaço vasio, não muito alto, aproveitado para o serviço de fotografia e depósitos de materiais diversos.

Ao tempo em que foi concluida essa formidável construção dava ela a impressão de um palácio das Mil e uma Noites surgido, como por encanto, naquela charneca desolada, que era Manguinhos. Na sua beleza e grandiosidade fazia, êsse edifício, profundo contraste com quase tudo o que, em matéria de edificações monumentais, existia então no Rio de Janeiro.

A primeira idéia que ocorrera a Oswaldo, ao arquitetar o levantamento de um grande edifício para Manguinhos, foi a de fazê-lo em estilo bizantino, chegando mesmo a esboçá-lo, porém depois, de tratar do assunto com Luiz de Moraes, suas preferências encaminharam-se para o estilo mourisco, mais rico, mais grandioso e mais fortemente evocador de mistérios como convinha à sede de uma instituição destinada à simbolizar a grandeza da ciência e a perscrutar os segredos da vida.

O primeiro projeto apresentado por Luiz de Moraes previa três pavimentos apenas, todavia depois Oswaldo resolveu acrescentar-lhe mais dois conferindo ao edifício não só mais espaço útil como maior grandiosidade.

Quando o edifício estava quase concluido ainda se podia ver, a seu lado, fazendo frisante contraste uma parte do primitivo laboratório, cortado ao meio, como que a salientar na modéstia do seu aspécto e dimensões, quanto crescera em menos de dez anos, a instituição que ali germinára tão desataviadamente, graças ao poderoso influxo de um nobre ideal, sustentado sem desfalecimento por êsse extraordinário brasileiro, sábio e realizador que foi Oswaldo Cruz.

Estando o prédio em condições de atender aos serviços a que era destinado logo nos passamos para êle.

O pavimento térreo ficou reservado aos serviços auxiliares do Instituto: salas de esterilizações e distribuição de produtos, tipografia,

almoxarifado, aparelhos de vácuo e ar comprimido, grandes centrífugos, agitadores, trituradores, máquina de fabricar gelo, câmara frigorífica, dois geradores de eletricidade um a gasolina e outro a gás pobre, que se alternavam no funcionamento porque ao tempo, a rêde da Light não se estendia até Manguinhos.

Os quatro primeiros pavimentos eram servidos por um elevador de marcha um pouco lenta com duas divisões uma inferior para cargas e a superior para passageiros, que ainda funciona sendo hoje o mais antigo do Rio de Janeiro, e, na época em que foi instalado, só existia na cidade um outro, hidráulico, na antiga Associação Comercial, hoje sede do Banco do Brasil, há muito retirado de uso.

O primeiro pavimento era ocupado pelas salas dos cursos e laboratórios; no segundo havia algumas dependências administrativas, vários laboratórios e a sala da Diretoria com um laboratório anexo onde OSWALDO trabalhava um pouco e recebia os técnicos que lhe iam mostrar seus trabalhos e preparações, trocar impressões sôbre as pesquisas que estavam realizando e pedir sugestões.

Havia relógios elétricos em todas as dependências e por meio de uma rêde telefônica interna OSWALDO podia-se comunicar com todos os laboratórios e dependências então existentes.

O Diretor possuia uma chave "mestra", que lhe permitia a entrada por toda a parte e da qual se servia frequentemente para penetrar num laboratório quando o técnico ainda não tinha chegado, com o intuito de satisfazer sua curiosidade em observar o resultado de uma experiência que acompanhava e não havia ficado completa na véspera, durante sua permanência no Instituto ou, para examinar uma preparação ao microscópio cuja coloração não ficara terminada, no momento da sua partida e a qual deixavamos junto ao microscópio, ao seu alcance, às vezes com uma indicação, a lápis num pedaço de papel, a respeito do que já observaramos.

No quarto pavimento, toda a ala direita foi reservada para a Biblioteca dividida em duas partes separadas por uma parede com uma porta ao centro. A porção posterior ficou sendo o depósito de livros e revistas, tendo sido instalada aí uma grande armação de ferro com quatro andares, com o piso de vidro grosso fosco. Cada um dêsses andares tendo setores separados fechados com portas dos dois lados, abrindo-se para uma estreita varanda circundante. Nas numerosas prateleiras, removíveis, dêsses setores colocavam-se os livros e revistas. Essa grande armação comportava cinquenta mil volumes, capacidade esta hoje mais que superlotada pela necessidade do aproveitamento de qualquer forma de todo espaço disponível, para o maior número possível de obras. A porção anterior da Biblioteca foi reservada para sala de leitura, sendo magnificamente decorada pelos tetos, arcadas e paredes com primorosos motivos mouriscos, linda e cuidadosamente modelados em gêsso branco, dispostos em placas com delicados arabescos, descendo até a altura dum artístico lambri de madeira, no mesmo estilo e envernizado em cor de tom castanho escuro. O grande

candelabro de cobre batido e bem assim as pequenas lanternas existentes na sala acompanham a mesma feição arquitetônica geral, em suas linhas.

O mobiliário era sóbrio, de cor idêntica à dos lambris e constante de uma grande mesa colocada ao centro e outras pequenas acomodadas junto às paredes da parte anterior do salão enquanto que na parte posterior e laterais dêste, foram colocados dois móveis, longos, pouco altos, providos de numerosas gavetas superpostas destinadas a guardarem as revistas recém-chegadas e, finalmente, mesa de forma redonda com dicionários e vários atlas.

Essas duas partes da sala de leitura ficavam separadas por um arco estremamente trabalhado e sustido por elegantes colunas.

A sala de leitura assim construida possuia ao mesmo tempo que um deslumbrante aspécto artístico, uma severidade tranquila convidativa à leitura.

Em sala ao lado da entrada da Biblioteca foi instalada a oficina de encadernação dos ilvros e revistas do Instituto, fazendo-se êste serviço com muito esmero, sendo as capas de cor vermelha com os dizeres impressos em ouro, no dorso dos volumes.

A ala esquerda do quarto pavimento foi reservada em sua maior parte ao Museu do Instituto especialmente destinado a expor materiais, peças e coleções relativas aos trabalhos sôbre Parasitologia, Zoologia, Anatomia patológica, Vírus, Micologia e Patologia tropical.

Destinou-se a parte da frente desta sala a reuniões, realizações de conferências e algumas aulas teóricas dos cursos.

Em contraste com às belezas arquitetônicas e decorativas que referimos, os laboratórios existentes nos dois pavimentos eram inteiramente simples no seu aspécto. Suas paredes eram lisas e revestidas até certa altura com ladrilhos brancos esmaltados sendo as partes mais altas pintadas a óleo numa tonalidade de colorido suave, verde ou cinzento claro.

Tinham estas salas o aspécto de verdadeiras celas destinadas àqueles que depositem a "fé eterna" na ciência, assim como apostolava o Mestre.

Possuia-se ali porém tudo o que pudesse facilitar o trabalho: água, luz força, canalizações de ar comprimido e vácuo, pias, mesas ladrilhadas e de tampo em madeira enegrecida, armários e a melhor aparelhagem da época no que dizia respeito a estufas, centrífugos, autoclaves, microscópios e demais instrumentos destinados às pesquisas, equipamento êste que constituia o que havia de mais completo e perfeito existente no Brasil, na época em que começaram a funcionar esses laboratórios.

Logo que o edifício e a maioria das suas dependência ficaram prontas transferimo-nos para ali e continuamos as investigações ficando êle inaugurado, conforme o hábito da Instituição, pelo início das

atividades nos laboratórios novos sem a menor solenidade e discursos alusivos ao ato.

Sempre preocupado em melhorar as atividades do Instituto, OSWALDO, em fins de 1908, resolveu editar as "Memórias" destinadas a divulgação dos trabalhos científicos, cujo número aumentava dia a dia e agora capazes de assegurar vida a uma publicação dessa ordem.

Como não houvesse, na época, no Instituto, quem pudesse cuidar do assunto êle tomou a si todo o trabalho desde a escolha das máquinas impressoras, seleção dos tipos, encomenda do papel, entendimentos com litógrafos e especialistas na feitura de "clichês", a seleção dos tradutores para os artigos e finalmente ainda a revisão das provas, sem demonstrar, como de costume, o menor enfado por todo o labor rotineiro que tomara a si.

Graças ao seu dedicado esforço, em abril de 1909 apareceu o primeiro fascículo das "Memórias do Instituto Oswaldo Cruz" muito bem impresso, tendo cada artigo um texto em português e outro em francês, inglês ou alemão à vontade do autor para tornar o assunto accessivel aos leitores estrangeiros desconhecedores do nosso idioma.

Diversos dêsses fascículos formavam um volume e hoje o número dêstes atinge a quarenta e oito em quarenta e um anos de ininterrupta publicação da revista.

Neles tem sido divulgada uma grande parte dos mais importantes trabalhos científicos de Manguinhos, aparecendo outros, em revistas especializadas nacionais e estrangeiras.

Durante muito tempo encarregou-se OSWALDO dos trabalhos relativos a publicação das "Memórias", esmerando-se para que saissem perfeitas e unicamente quando tinha de ausentar-se passava a tarefa a LUTZ que a executava com muito zelo e boa vontade.

Em agôsto de 1909, OSWALDO deixou a Diretoria Geral de Saúde Pública em virtude da lei que não permitia acumulações, mais uma vez posta em vigor.

Já servira êsse mesmo dispositivo para que, em 1903, o Conselheiro NUNO DE ANDRADE fosse afastado do cargo e substituido por OSWALDO agora atingido por sua vez. Assim, abandonou a repartição que durante mais de seis anos dirigira com tão excepcional competência e inestimável proveito ao País e seu bom nome no estrangeiro.

Sabia-se de antemão que, como das outras vezes, a aplicação dessa lei não seria duradoura e que as acumulações voltariam restabelecer-se como se verificou daí a algum tempo. Quem mais sofreu neste caso foi entretanto o povo brasileiro que ficou privado da ação benéfica do homem excepcional que tanto zelara por sua saúde e bem estar.

Não houve demonstração alguma especial de reconhecimento por ocasião da saida de OSWALDO, da Saúde Pública. Nem se lembrou o Govêrno de oferecer-lhe um prêmio pelos relevantíssimos serviços prestados ao País, nem ao menos de conceder mais recursos ao Instituto o que seria do seu máximo agrado. Nada disso, apenas a banal carta de agradecimento da praxe.

Parecia que tudo estava esquecido na memória dos homens; não só os mortos, mas muitas vezes também os vivos "vont vite"...

Além dos muitos serviços que OSWALDO prestara à sua Pátria havia êsse de inestimável valor, qual o de haver demonstrado, mais uma vez, com a sua firmeza de ação e a dos seus companheiros de labuta, a absoluta capacidade dos brasileiros para resolverem por si mesmos seus problemas, desde que assumissem corajosamente a responsabilidade de suas iniciativas e trabalhassem com a decisão de levá-las a termo, vencendo todos os obstáculos.

O ato do Govêrno aceitando a sua exoneração do cargo de Diretor da Saúde Pública não o surpreendeu nem molestou porque estava mais que habituado ás reviravoltas nas opiniões dos homens e as inconseqüências do seu proceder. Aliás em vida, salvo entusiasmos momentâneos, OSWALDO nunca teve seus méritos devidamente reconhecidos e sòmente após sua morte foi que lhe veio o reconhecimento e a sua glória que, cresce dia a dia e durará para sempre.

Indicado por OSWALDO, substituiu-o na Diretoria da Saúde Pública, HENRIQUE FIQUEIREDO DE VASCONCELLOS companheiro dos primeiros dias e dedicado amigo, o único no Instituto que o tratava por "você" por ter sido seu contemporâneo no colégio São Pedro de Alcântara, onde ambos fizeram o curso secundário.

Com a entrada de FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS para a Saúde Pública, o Govêrno esquecido dos benefícios advindos dos gastos feitos ao tempo de OSWALDO, começou a reduzir as verbas destinadas a salvaguardar a saúde do povo, sob pretexto de fazer economias e VASCONCELLOS, prevendo as conseqüências que adviriam, com as restrições impostas, para os serviços que dirigia, deixou, após dois anos de lutas, a direção da Saúde Pública, voltando, ao seu posto em Manguinhos, procedimento êste sumamente acertado e criterioso.

Até 1909 os discípulos que procuravam o Instituto iam sendo iniciados, a princípio por OSWALDO, nos assuntos que estudavam, e mais tarde por alguns dos elementos mais antigos e experimentados nos diferentes ramos de pesquisa e estudos, ocupação que tomava muito tempo aos técnicos e, dada a diversidade cada vez maior das especialidades, ia-se tornando impossível a cada um, isoladamente, ministrar os ensinamentos básicos que deveriam constituir o lastro da formação científica de novos investigadores.

Não tardou OSWALDO em aperceber-se do facto e, à vista do número crescente dos que procuravam o ambiente de Manguinhos, trazidos pela aspiração de se votarem à ciência e às pesquisas, resolveu instituir um curso preliminar oficial a que denominou: "Curso de Aplicação" que se destinava ao ensino teórico e prático, durante um período de dois anos, versando sôbre as especializações de que se ocupava o Instituto.

Vários eram os professores saidos todos do corpo de pesquisadores de Manguinhos.

Compreendia o Curso: noções gerais de técnica de laboratório especialmente sôbre Bacteriologia, Física e Química biológica seguidas de uma parte especial compreendendo, Bacteriologia, Micologia, Vírus, Protozoologia, Entomologia, Ixodídeos, Helmintologia e Animais peçonhentos.

Êste curso funcionando ininterruptamente até hoje, com as alterações que a evolução exige fez sempre jus aos maiores encômios de brasileiros e estrangeiros.

Sua influência marcante na formação de numerosas gerações de investigadores brasileiros e sul-americanos e bem assim na de sanitaristas é indiscutível. As noções difundidas e os conhecimentos científicos recebidos neste aprendizado asseguraram sempre sólida base no domínio das investigações aos que o fizeram.

Em 1910 OSWALDO tomou a feliz iniciaitva de atrair, para Manguinhos, GASPAR VIANNA um cientista em potencial que errava incerto de laboratório em laboratório, em busca de um ambiente favoravel ao desenvolvimento de suas qualidades de investigador, até então apenas esboçadas.

Em Manguinhos encontrou o que lhe era necessário para revelar sua personalidade predestinada à pesquisa. Em breve enriqueceu o patrimônio científico do Instituto com uma série de trabalhos de real valor; a evolução do "Tripanossoma cruzi" nos tecidos humanos e dos animais, o tratamento da leishmaniose pelo tártaro emético, que abriu o caminho para seu uso no granuloma venéreo e na esquistossomose, a classificação da leishmânia encontrada na úlcera de Baurú e nas "úlceras bravas" do Amazonas, estudos sôbre blastomicose e outras micoses.

Foi ainda o anátomo-patologista que depois da saida de ROCHA LIMA deu maior desenvolvimento e passou a dirigir as atividades da atual Divisão de Patologia do Instituto, tendo OSWALDO, em seu tempo, organizado uma secção junto à Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro afim de vulgarizar o uso das necrópcias como recurso para aperfeiçoar os diagnósticos clínicos, prática até então pouco adotada, com êsse objetivo.

Em 1912 veio ao Brasil a convite de OSWALDO, onde permaneceu durante seis meses, o reputado anátomo-patologista alemão HERMANN DÜRCK com quem passou GASPAR VIANA a trabalhar em assuntos de Anatomia e Histologia patológica.

Não obstante suas múltiplas ocupações ainda achava GASPAR VIANA tempo para percorrer as enfermarias da Santa Casa de Misericórdia em busca de casos interessantes. Trabalhava febrilmente excitado ainda por outra febre denunciadora do mal cruel que o ia minando e cujos golpes êle desafiava em segredo numa obstinação em não se submeter ao repouso e a um regime capaz de sustentar melhor suas forças que declinavam a olhos vistos.

Assim viveu êle durante quatro anos que esteve conosco vindo a falecer em junho de 1914, com 32 anos de idade, apenas.

A morte de GASPAR VIANA foi um rude golpe para Manguinhos que perdia assim um elemento de real valor já completamente afeito à nossa vida, nossos métodos de trabalho e entusiasmo que dedicavamos à Instituição.

Era o primeiro companheiro que partia para sempre com o mais sincero pesar de todos, sobretudo de OSWALDO, que o estimava e apreciava imensamente o seu grande valor.

Entre 1910 e 1912 chegaram alguns novos discípulos que depois se incorporaram ao grupo dos pesquisadores do Instituto. Foram: ASTROGILDO MACHADO, LEOCÁDIO CHAVES e EURICO VILLELA destacados para trabalhar com CHAGAS em Lassance, OSCAR D'UTRA E SILVA e CESAR GUERREIRO que passaram a trabalhar sob a orientação de GASPAR VIANA, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA que se especializou em Protozoologia e Vírus com HENRIQUE ARAGÃO; e LAURO TRAVASSOS que se iniciou com JOSÉ GOMES DE FARIA no estudo da Helmintologia.

Com êstes novos elementos foi-se enriquecendo a até então bem pequena equipe de Manguinhos.

OSWALDO na sua longa e penosa excursão pelas costas do Brasil, quando Diretor da Saúde Pública, no pequeno vapor "República" e depois no "Amazonas", teve ocasião de apreciar pessoalmente a péssima situação sanitária em que viviam as nossas populações rurais, afligidas pela malária, verminoses, leishmanioses, úlceras tropicais, bouba e outros males endêmicos e ainda por êsses grandes fatores de degenerescência da raça — a sub-nutrição crônica, as avitaminoses, a carência de iodo e sais nas zonas altas, afastadas do mar.

Êstes graves problemas sanitários o impressionaram extraordinariamente, resolvendo, por êsse motivo, dar um balanço na situação aprofundando o seu estudo em várias regiões do País que se lhe afiguraram mais apropriadas a essas primeiras investigações.

Tendo conseguido auxílio financeiro por parte do Serviço de Obras contra as Secas do Ministério da Viação e do Serviço da Defesa da Borracha do Ministério da Agricultura, organizou várias comissões com técnicos do Instituto e antigos companheiros da Saúde Pública enviando-as ao Amazonas e a diversas regiões do Centro e Nordeste brasileiros até então relativamente pouco estudadas. Transformou também o posto de Lassance em um centro de estudos de doenças rurais não só para a tripanossomiase ali estudada por CHAGAS e sua equipe como para várias outras doenças da nossa interlândia.

Ali trabalharam, em épocas diversas, BELISÁRIO PENNA, ASTROGILDO MACHADO, HENRIQUE ARAGÃO, CESAR GUERREIRO, MAGARINOS TORRES, EURICO VILLELA, LEOCÁDIO CHAVES, ARÊA LEÃO, EMANUEL DIAS, OCTAVIO MAGALHÃES, CESAR PINTO, OLIVEIRA CASTRO e o Professor E. BRUMPT.

Em Lassance fizeram-se numerosas investigações sôbre moléstia de Chagas, malária e seus vetores, verminoses, micoses, alastrim, cujo vírus foi então ali isolado, além de outros assuntos de patologia tropical estudados durante os anos de funcionamento dêsse centro de pesquisas.

As comissões organizadas por OSWALDO, logo que supridas dos materiais necessários às suas atividades, partiram a dar desempenho de suas tarefas.

CARLOS CHAGAS, PACHECO LEÃO e JOÃO PEDROSO seguiram para o Amazonas, GOMES DE FARIA e JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE para os Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, ARTHUR NEIVA e BELISÁRIO PENNA para Bahia, Piauí e Goiás, ASTROGILDO MACHADO acompanhou o engenheiro TRAVASSOS em sua comissão exploradora do traçado da Estrada de Ferro Central do Brasil de Pirapora, em Minas Gerais, a Belém, no Pará, descendo grande parte do rio Araguaia e, mais tarde, com ADOLPHO LUTZ percorreu o S. Francisco de Pirapora a Joazeiro.

Em seu conjunto, essas excursões científicas representaram a maior exploração médica jamais realizada em nossos sertões para o estudo de suas condições sanitárias e endemias reinantes.

Os resultados foram muito elucidativos mas um tanto apavorantes. O Brasil era uma terra povoada de doentes dos mais variados males: aquele "vasto hospital" como o denominou mais tarde, em célebre discurso, êsse notável expoente da nossa Medicina que foi o Professor MIGUEL PEREIRA.

Muito benéfica foi todavia essa iniciativa de OSWALDO, mostrando através dessas explorações sanitárias de uma tão vasta zona do nosso País a verdadeira situação em que se encontravam suas populações, porquanto, daí em diante, o Govêrno Federal, os dos Estados e Municípios alertados pelos resultados dêsses inquéritos, começaram a atender, por vários modos às zonas rurais e, com o correr dos tempos em escala cada vez maior e mais perfeita.

Em conseqüência criaram-se os serviços de profilaxia rural, os centros de saúde na nossa interlândia até atingirmos a fase atual em que já se antevê a extinção completa do paludismo graças à ação de inseticidas de ação poderosa e dos novos produtos sintéticos destruidores dos parasitas no organismo humano.

O marco zero dessa longa estrada de redenção do nosso povo, tão auspiciosamente percorrida, ficará assinalada para sempre pela figura inconfundível de OSWALDO, o criador de uma nova consciência sanitária, no Brasil.

Antes mesmo de terminados êsses inquéritos sôbre as nossas endemias começou OSWALDO a pôr em andamento seus planos de construção de um hospital em Manguinhos no qual pudessem os doentes ser cuidadosamente estudados e convenientemente tratados, à luz das mais recentes aquisições científicas, que sôbre o assunto fossem aparecendo, assim como os casos de outras moléstias em que tivessem interesse os técnicos do Instituto para estudos e pesquisas.

Encarou OSWALDO o problema hospitalar com LUIZ DE MORAES, viu o que havia de mais moderno em livros e revistas especializadas e planejou êsse hospital com seis pavilhões separados o que era considerado a melhor disposição técnica, na época. Uma vez tudo bem estu-

dado determinou a construção do primeiro pavilhão sôbre a outra colina de Manguinhos a uns trezentos metros do edifício principal.

Grande amigo de aperfeiçoamentos e inovações de valor real que então julgando ser utopia chamavamos de "jacintadas", resolveu introduzir nesse pavilhão, a ser construido, os melhoramentos indicados na época e ao fim a que se destinava o edifício.

Sua imaginação neste caso, entre outras coisas, expandiu-se num projeto inédito naquele tempo qual o de refrigerar as duas enfermarias do pavilhão.

Com êsse fim, para obter o melhor isolamento do calor externo, o pavimento que deveria comportar as duas enfermarias foi construido sôbre um porão de menos de dois metros de altura, havendo em cima do teto um forro, de maior elevação, para protege-lo contra o calor solar direto mediante um colchão de ar no espaço assim formado, no qual numerosas aberturas, semelhantes às existentes no porão, facilitavam a renovação do ar.

As janelas podiam ser fechadas hermeticamente e uma larga varanda protegeria as paredes laterais do prédio contra a insolação direta.

No porão do prédio foram instaladas máquinas refrigeradoras e uma câmara frigorífica com tubulações nas quais esfriava o ar a ser lançado por meio de grandes ventiladores e largos condutores de madeira para dentro das enfermarias, à temperatura desejada, automaticamente regulada.

A refrigeração chegou a funcionar com satisfatório resultado, mas por ser extremamente dispendiosa em relação às nossas verbas teve de ser suspensa por anti-econômica para uso constante.

Essa instalação foi sem dúvida uma precursora em matéria de ar condicionado, assunto que sòmente muitos anos depois pôde alcançar a solução prática e relativamente econômica atualmente em uso.

Êsse primeiro pavilhão possuia duas enfermarias comportando trinta leitos cada uma e vários quartos isolados onde os doentes podiam ser hospitalizados individualmente, assim como laboratórios, biotério, raios X, farmácia, sala de curativos e pequenas operações, quartos para o pessoal e demais dependências, tudo bem organizado sendo, na época e dentro das suas proporções, o que de mais adequado podia haver para os trabalhos do Instituto.

Oswaldo estava sempre pronto a servir ou atender a uma solicitação quando pudesse ser útil seu conselho, ação ou presença. Como era considerado o árbitro supremo em assuntos de Higiene e Medicina Experimental a êle recorriam sempre quando surgia algum problema de difícil solução, nestes assuntos.

Embora seu estado de saúde já não fosse bom, jamais, mesmo com seu sacrifício, recusou sua colaboração sempre tão benéfica quão decisiva e útil.

A Companhia "Light and Power" do Rio, por exemplo, na ocasião de construir sua grande represa no Ribeirão das Lages, foi fortemente acusada pela imprensa e Parlamento de ser a causadora da epidemia de paludismo que assolou, nessa época, a região.

Sentindo a Companhia a injustiça da acusação, pois realizava o que era possível para proteger seus operários e os habitantes da localidade, apelou para OSWALDO. Êste partiu sem demora afim de investigar pessoalmente a situação, em começo do verão de 1910 quando a temperatura era a que menos convinha à sua saúde.

Examinou cuidadosamente a zona, a situação de seus habitantes e dos trabalhadores, a assistência médico-sanitária que era prestada e demonstrou claramente à luz das suas observações que a emprêsa não era culpada pelo surto de paludismo que grassava na região o qual se exacerbava, no momento, apenas pelo afluxo de trabalhadores ao local das obras.

Situação análoga, e de maior gravidade, era a que se registrava, no Amazonas, onde a "Madeira and Mamoré Railway", construia uma estrada destinada a ligar o Brasil à Bolívia, numa zona de altíssimo índice malarígeno, tentativa que já se malograra no período do Govêrno Imperial, devido à insalubridade da região e à carência de meios de defesa contra o paludismo e outras doenças.

A Companhia construtora era acusada de gastar tantas vidas quantos dormentes no assentamento da linha e o assunto dera até motivo a interpelações em parlamentos europeus e a reclamações diplomáticas pois que muitos operários eram contratados no estrangeiro.

OSWALDO partiu para a inhóspita região, levando como companheiro BELISÁRIO PENNA seu antigo auxiliar no combate à febre amarela no Rio de Janeiro.

Depois de penosa viagem, chegou a Porto Velho, na região do rio Madeira, onde começava a estrada e logo, como se fosse um moço cheio de vida e saúde, passou a examinar a situação com a sua habitual meticulosidade, apresentando a seguir um modelar relatório no qual estudava de modo completo os problemas locais e as falhas a corrigir para tornar ainda mais eficientes as medidas profiláticas já postas em execução pelos encarregados dos serviços médicos e sanitários da emprêsa.

À sua volta, em meados de 1910, o Govêrno do Estado do Pará pediu-lhe que extinguisse a febre amarela na cidade de Belém e em outras próximas, com o que concordou.

Em fins de 1910 estava de novo no Amazonas com um grupo de elementos escolhidos entre os melhores da sua antiga brigada carioca de "mata mosquitos".

Levou consigo JOÃO PEDROSO, MAURICIO DE ABREU, SERAPHIM SILVA, ABEL LACERDA, EMYGDIO DE MATTOS, CAETANO CERQUEIRA, BELISÁRIO PENNA, LEOCÁDIO CHAVES, THEOPHILO DE ABREU e COSTA LIMA tendo os três últimos ingressado, mais tarde definitivamente no Instituto, ao qual vieram

a prestar relevantes serviços tanto na parte cientifica como na administração do mesmo.

Em seis meses, muito antes do prazo estabelecido, o mal estava jugulado na Capital do Estado do Pará e igualmente em Bragança e Santarém.

Em 1911 realizou-se outra exposição internacional de Higiene em Dresden, sendo o Brasil convidado a fazer representar-se e, considerando o Govêrno que ninguem melhor do que o vencedor do certame de 1907 em Berlim, estaria em condições de chefiar a missão convidou OSWALDO. Êste aceitou o encargo e levou consigo FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, CARDOSO FONTES, ATALIBA FLORENCE e LUIZ DE MORAES como componentes da representação do Brasil.

Em Dresden organizou tudo com o cuidado de sempre e, como era quem melhor falava o alemão entre os representantes brasileiros, assumiu a incumbência de enteder-se com os construtores do pavilhão, operáriso encarregados ads montagens das estantes e demais serviços, indo às oficinas, lojas e fábricas para adquirir o que era necessário ao aparelhamento do pavilhão do Brasil.

Ali como já sucedera em Berlim, em 1907, a seção brasileira apresentava tudo o que de melhor havia em matéria de Higiene e de Medicina Experimental, despertando assim grande interesse geral de parte de leigos e cientistas que constantemente a visitavam.

A vitória do Brasil foi completa, recebendo OSWALDO as mais entusiásticas demonstrações de apreço por mais êsse merecido triunfo.

Nessa exposição Manguinhos concorreu com elevado número de novos trabalhos originais e descobertas recentes sôbre: a tripanossomiase americana, a leishmaniose e seu tratamento pelo tártaro emético, a filtração do germe da tuberculose, os virus do alastrim e da varicela, a blastomicose, a piedra e outras micoses, a partenogênese nos carrapatos, o soro-diagnóstico da tripanossomiase e de outras doenças, dezenas de novos protozoários, culicídios, tabanídeos, ixodídios, vermes, vacinas e soros, peças anátomo-patológicas de várias doenças tropicais.

O extraordinário valor do material exposto impressionou vivamente todos que visitaram o pavilhão do Brasil.

Era uma demonstração evidente da atividade e do grande interesse científico daquela equipe de jovens que OSWALDO havia organizado em Manguinhos e da qual se rejubilava sentindo confirmar-se cada vez mais a solidez da sua Escola.

Sucedem-se as conferências sanitárias em Roma, na América do Norte, México, Montevidéo de 1911 a 1913, sendo OSWALDO enviado a todas como um verdadeiro embaixador das missões cientificas brasileiras, na qualidade do nosso maior expoente em assuntos de Higiene, portador dos títulos de vencedor da febre amarela e criador de uma grande Escola de Medicina Experimental.

Impondo-se pelo valor pessoal e pelos feitos em importantes campanhas sanitárias, os cientistas e sanitaristas de todo o mundo pro-

curavam conhecer êsse homem excepcional para homenageá-lo à altura dos seus extraordinários méritos.

As mais prestigiosas associações científicas do mundo conferiam-lhe diplomas de honra, os Govêrnos ofereceriam-lhe condecorações e êle permanecia o que sempre fora, um homem simples e acessivel que só vivia para a realização do grande ideal da sua vida, isto é, — Manguinhos.

O prêmio Schaudinn conferido a CARLOS CHAGAS, representando bem a consagração de um dos membros do Instituto o comoveu mais do que todas as honrarias de que tem sido alvo.

Pensava sòmente no Instituto e nos que ali trabalhavam e em suas ausências de Manguinhos pedia relatórios do que se fazia na Repartição afim de sentir-se sempre presente e ao par de tudo como era tanto do seu agrado. Quando escrevia aos seus discípulos ausentes do Instituto, nas suas cartas sempre muito delicadas os informava detalhadamente do que se fazia em Manguinhos e dos seus projetos futuros.

Durante suas viagens tomava nota do que pudesse ser útil a Manguinhos, solicitando preparações microscópicas, exemplares paraistológicos e peças interessantes nos laboratórios que visitava e que fossem de utilidade às nossas investigações.

Relatava nossos trabalhos aos especialistas no estrangeiro assinalando seus pontos originais e fazendo demonstrações com preparados microscópicos, desenhos e fotografias que levava sempre consigo.

Adquiria microscópios e aparelhagens modernas, assim como livros que a nossa biblioteca não possuisse. E assim, como se estivesse em Manguinhos, desejava de tudo inteirar-se, trabalhando e auxiliando-nos no que nos fosse útil, com desvelado interesse.

Entre 1912 e 1914 chegaram ao Instituto para fazer o curso e elaborar suas teses: MASSILON SABOYA, OLYMPIO DA FONSECA FILHO, HERACLIDES DE ARAUJO, JOAQUIM VIDAL, JOSÉ BERNARDINO ARANTES, ROBERTO DE ALMEIDA CUNHA, CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO, BENTO OSWALDO CRUZ, OCTAVIO MAGALHÃES, ANTONIO LUIZ BARROS BARRETO e CASSIO MIRANDA.

Dêstes alguns ingressaram mais tarde no Instituto, sendo OLYMPIO DA FONSECA o seu atual Diretor. Outros fizeram carreira com sucesso em outras instituições científicas e em diversos setores de atividades médicas e sanitárias.

Em princípios de 1914, o Govêrno incumbiu OSWALDO de estudar na Europa, os melhoramentos existentes nos mais adiantados centros de pesquisas e que pudessem ser úteis a Manguinhos.

Partiu em meados de junho chegando a Paris onde foi surpreendido pela grande guerra quando apenas dava início ao desempenho da sua missão.

Vencendo ingentes dificuldades acrescidas pela presença em sua companhia de diversas pessoas de sua família, conseguiu finalmente chegar a Londres onde permaneceu algum tempo sempre muito preo-

cupado por não poder dar o devido desempenho a sua missão e por estar longe do Brasil e dos seus afazeres em Manguinhos.

As viagens eram então perigosas devido à infestação dos mares pelos submarinos todavia não podendo resistir mais ao desejo de regressar, embarcou indiferente aos riscos chegando ao Rio felizmente, sem maior novidade.

Recebemo-lo satisfeitos, contudo notamos logo que, nesses meses de ausência seu vigor físico declinara bastante; sua tez outr'ora pálida ia-se amarelecendo agora; parecia mais gordo devido à infiltração dos tecidos pelo edema sobretudo perceptivel na região maleolar. Trazia óculos escuros em conseqüência das primeiras manifestação da retinite, que lhe tornava incômoda a claridade muito forte e sua visão declinava, ràpidamente.

Certa vez, como que para se submeter a um teste, pediu num laboratório, em Manguinhos, para examinar um preparado cujas minúcias microscópicas delicadas outr'ora tanto apreciara e que agora certamente escapariam à sua visão, em decadência.

O discípulo adivinhando-lhe a intenção e colhido imprevistamente alinhavou a desculpa de que não o tinha à mão no momento, e silenciou emocionado.

Houve grande desafogo quando o mestre simulando nada ter percebido, mudou de assunto não insistindo em ver outras preparações.

Era esta a dramática situação de Oswaldo em meados de 1915.

O Instituto cada vez mais forte nos seus trabalhos de pesquisas com sua vida assegurada para sempre e o seu criador num declínio rápido, já beirando o final da trajetória luminosa da sua vida.

Acrescia nossa tristeza notarmos alterações na sua personalidade: observava-se nele menos vivacidade no olhar, menos interesse pelas coisas de Manguinhos e pelo que fazia nos laboratórios.

Tomou hábitos que nunca lhe viramos como o de queimar perfumes raros em seu gabinete de trabalho, o que também Salles Guerra extranhou um pouco.

Essas e outras ocorrências não comuns em Oswaldo embora não muito acentuadas, faziam-nos suspeitar que, a intoxicação cada vez mais profunda do seu organismo devido ao máu funcionamento renal, estivesse começando a refletir-se sôbre sua personalidade.

Embora suas condições de vida fossem cada vez mais precárias não se resignava a abandonar a luta e a tomar um descanso que lhe tornasse menos exhaustivos os derradeiros momentos que tinha a seu dispor.

Sempre preocupado em beneficiar sua Pátria enquanto as poucas forças que lhe restavam o permitissem, ei-lo a elaborar planos para o combate à tuberculose, e a lepra que traçou, como de costume, perfeitos, acabados e cheios de probabilidades de êxito; contudo, em vista de serem dispendiosos, não foram postos em prática pelo Govêrno, ficando assim retardados os benefícios que adviriam e cujo valor superaria de muito quaisquer dispêndios feitos para obtê-los.

Atendeu ainda ao pedido do Govêrno do Estado do Rio para organizar um plano de extinção da formiga saúva, que leva anualmente para seus ninhos subterrâneos um décimo, senão mais, de toda a produção agrícola brasileira.

Imaginou poder vencê-las e o conseguiria certamente com um plano de combate análogo ao usado para destruir os mosquitos e suas larvas por meio de uma campanha sistemática e contínua contra os focos das formigas, com o auxílio de uma grande brigada de técnicos adestrados e bem aparelhados para êsse serviço como o eram os seus "mata mosquitos".

Antes porém de estabelecer os seus planos definitivos, como pesquisador arguto que era resolveu estudar algumas particularidades da vida dêsses insetos na natureza e em formigueiros artificiais, engenhosamente construidos sob suas indicações.

Feitas as observações no terreno, voltava OSWALDO, um pouco ofegante para seu laboratório trazendo vasos de vidro cheios de formigas que fazia penetrar nos seus formigueiros artificiais dotados de uma parede de vidro que lhe permitia as observações do trabalho dos insetos.

Infelizmente não pôde prosseguir, por muito tempo êsse trabalho porque o mal que o consumia acelerou sua devastação e já ninguem podia mais ter ilusões a êsse respeito observando sua tez macilenta e sua cabeleira toda embranquecida parecendo então a de um setuagenário, embora contasse pouco mais de quarenta e dois anos de idade...

Já se ia agora o próprio OSWALDO dando conta do seu precário estado de saúde e suas confidências a respeito, ao Dr. SALLES GUERRA, se tornavam mais freqüentes. Êle não se enganava sôbre seu estado de saúde e já anteriormente escrevera a ROCHA LIMA tratando de seus projetos de uma viagem ao Oriente "Isto se me permitir a debacle em que me acho. Vocês precisam trabalhar com afã pelo nome do nosso Instituto cuja guarda confio a vocês, pois quanto a mim, sou um homem ao mar".

Seu médico, sua família seus discípulos e os amigos mais chegados sentiam que necessitava deixar o Rio para um clima mais ameno onde o escasso viver que lhe restava decorresse mais suavemente. Mas em face de uma solução desta ordem havia um primeiro obstáculo a ser vencido porquanto era necessário que para onde quer que fosse tivesse uma ocupação adequada para preencher êsses poucos meses de vida que lhe restavam.

OSWALDO não era uma individualidade feita para o repouso e se fosse condenado a inação o mal moral viria agravar sua moléstia já tão avançada, no momento.

Foi quando numa dessas reuniões de sua família e dos seus íntimos, depois de lembrados vários alvitres, surgiu em dado momento, a lembrança feliz do seu primogênito, logo aceita por todos, para que se conseguisse sua nomeação para o cargo de Prefeito de Petrópolis, a cidade serrana próxima ao Rio, onde OSWALDO costumava passar algum

tempo no verão e um ou outro fim de semana nos outros meses do ano.

OSWALDO tinha especial predileção por essa cidade e sempre cogitou de planos para seu urbanismo e higienização, durante seus lazeres ali.

Não foi difícil conseguir-se que o Govêrno do Estado do Rio lhe fizesse o convite para prestar serviços à cidade, na qualidade de Prefeito.

Previamente posto ao par dos carinhosos planos dos que lhe eram mais chegados, sentiu OSWALDO que chegara afinal o momento de ceder concordando tristemente com o que de mais penoso lhe pudesse haver e que era o seu afastamento de Manguinhos, tão querido. Tinha porém o consolo de sentir que os destinos da sua Casa confiados agora aos seus discipulos, estavam absolutamente seguros pelos tempos a vir.

Com a consciência tranquila de quem cumprira integralmente seu dever e realizara um nobre ideal aceitou aquele último sacrifício e resolveu seguir para Petrópolis.

Um dia soubemos que se havia partido; não houve nem caberiam despedidas neste caso. Foi para Petrópolis como para uma das suas habituais missões, e a derradeira, levando seu grande amigo Dr. JOÃO PEDROSO, como secretário, posto que sempre ocupara naqueles atribulados tempos da Saúde Pública.

Sem solenidade alguma, como sempre, assumiu a chefia da Prefeitura e, por momentos, afigurou-se a todos que lhe haviam renascido toda a sua antiga energia e atividade. Assim, nesse último lampejo da sua grande existência, com rapidez incrivel apresentou um plano completo de melhoramentos e higienização da cidade, pondo-o logo em execução.

Súbito a cidade apareceu limpa, plantada de hortências azues ao longo das margens dos seus rios, árvores novas replantadas nas falhas da arborização; tratou do sistema de esgotos, calçamentos e abertura de soberbas estradas para as altas montanhas do massiço da Pedra-Açú com mais de dois mil metros de altura, local que sempre desejara visitar. Os petropolitanos exultaram com a ação dêsse homem extraordinário que já nos últimos dias de sua vida, só pensava nos serviços que ainda poderia prestar à cidade.

O Município porém possuia dois partidos políticos a se degladiarem constantemente. Ambos, ao começo, se aproximaram de OSWALDO, procurando granjear-lhe as boas graças afim de lograrem concessões e favores que não podiam ser satisfeitos e com essa atitude de OSWALDO irritaram-se fortemente.

Percebendo que êsse homem apesar de fortemente combalido e prestes a sucumbir jamais cederia a interesses subalternos de quem quer que fosse, tornaram-se ferozes no seu ódio e então, congregados desfecharam uma das mais cruéis campanhas imagináveis contra a personalidade de um homem superior, excepcional e benemérito por tantos feitos gloriosos e agora nos limites extremos da sua vida.

As forças de OSWALDO tendo cedido completamente, tombou êle num leito para não mais levantar-se. Nem mesmo aí a ferocidade dos

politiqueiros o deixou tranquilo e chegaram na sua ousadia a fazerem-lhe ronda à casa promovendo barulhenta assuada que OSWALDO pôde ouvir e que então relembravam, em menor escala, as dos tempos da Saúde Pública durante o Govêrno do Presidente RODRIGUES ALVES, em que até sua própria vida estivera em perigo. Estas manifestações cruéis e injustas contra OSWALDO tiveram lugar nos primeiros dias de fevereiro de 1917. Ainda teve forças para dizer que não se enganava sôbre sua significação a um amigo querido que procurara caridosamente desviar sua atenção dessas demonstrações de desagrado que se lhe faziam nos últimos dias de sua vida.

A 11 de fevereiro OSWALDO se extinguia, em Petrópolis, aos quarenta e quatro anos de idade, em sua modesta e tão aprazível residência da rua Monte Caseros.

Ao dia seguinte, pela manhã, seu corpo simplesmente envolto numa mortalha branca, como fôra de sua vontade, foi inhumado, com grande acompanhamento no cemitério de S. João Batista, ao lado do túmulo do seu pai, Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ, como êle sempre desejara.

Voltavamos desta jornada muito contristados para Manguinhos mas aí encontramos um grande consolo em meio a desgraça que nos abatia no momento.

OSWALDO ali estava em sua magnífica realização tão vivo como sempre através das normas e exemplos que nos legara, a dar-nos a mesma assistência moral de sempre e a guiar nossos passos.

Desde então aqueles que mereceram a honra de sucedê-lo na direção de sua Casa, foram tão sòmente apóstolos na condução dos destinos do Instituto, cumprindo o elevado dever de manter o prestígio da Instituição seguindo fielmente as normas ditadas pelo Mestre.

Em Manguinhos o seu nome como criador e diretor permanecerá para sempre envolto numa auréola da mais sincera admiração que o tempo sòmente fará avolumar.

A sala em que OSWALDO trabalhou até os últimos dias de sua vida, em Manguinhos, foi piedosamente conservada como se achava então, trazendo-se para ela alguns dos aparelhos que usou nos primeiros dias do Instituto, sua biblioteca particular, adquirida pelo Govêrno, após sua morte, o fardão acadêmico, sua blusa de trabalho, escritos seus, recordações de família e outras lembranças suas.

Na parede atrás da sua mesa foi fixada uma placa de bronze com algumas expressivas palavras de CHAGAS interpretando nossos sentimentos da mais sincera admiração pela sua personalidade.

Hoje, quando penetramos nessa sala, onde muitas coisas se encontram como êle as dispoz, temos a impressão que a deixou por momento e vai voltar, tão impregnado está o ambiente de seu espírito e da sua vida.

Certamente poderão ser organizados no Brasil outros Institutos de pesquisas maiores e melhor aparelhados que o de Manguinhos, porém poucos serão aqueles em cuja extrutura se encontre tão intimamente incorporada a vida de um homem, de um verdadeiro apóstolo genial que exauriu o cálice do sofrimento até a última gota, numa

existência abreviada, oferecida em holocausto à sua inabalável fé na ciência e à absoluta confiança que depositava na capacidade dos seus compatriotas e nos grandes destinos de sua Pátria.

E' por isso que sua personalidade se acha tão firmemente integrada em tudo o que diz respeito a Manguinhos e, embora desaparecido do ról dos vivos, êle aí está sempre presente e cada vez mais admirado.

Um dos valiosos serviços prestados por OSWALDO foi a demonstração através de suas realizações em Manguinhos, da importância da ciência como elemento essencial ao progresso e à cultura de uma nação, despertando com êsse exemplo, um interesse cada vez mais generalizado pela investigação científica nos mais diversos setores das atividades brasileiras.

Depois da sua organizçaão oficial em 1908, outras leis e regulamentos têm sido postos em execução em Manguinhos, para atender ao desenvolvimento que tem tido e, às disposições administrativas vigentes, mas, o que na realidade orienta e governa a Instituição é e será sempre a grande lei não escrita da sua tradição a cujas normas nos temos mantido fiéis, e que nos foi transmitida pela palavra e pelo exemplo do seu excelso fundador.

E' um código para nós sagrado que se vem transmitindo de uns discípulos a outros, de geração em geração. Essa orientação de Manguinhos assim mais obediente à uma forte tradição do que a leis e regulamentos escritos tem sido nestes muitos anos de sua existência, após a morte de OSWALDO, o mais seguro fator da sua imortalidade e do constante fortalecimento do seu prestígio.

Este esboço histórico relativo ao Instituto Oswaldo Cruz abrange os 17 primeiros anos da sua existência, aqueles em que a instituição, com OSWALDO à frente, nasceu, cresceu e firmou-se como a primeira grande escola de Medicina experimental brasileira.

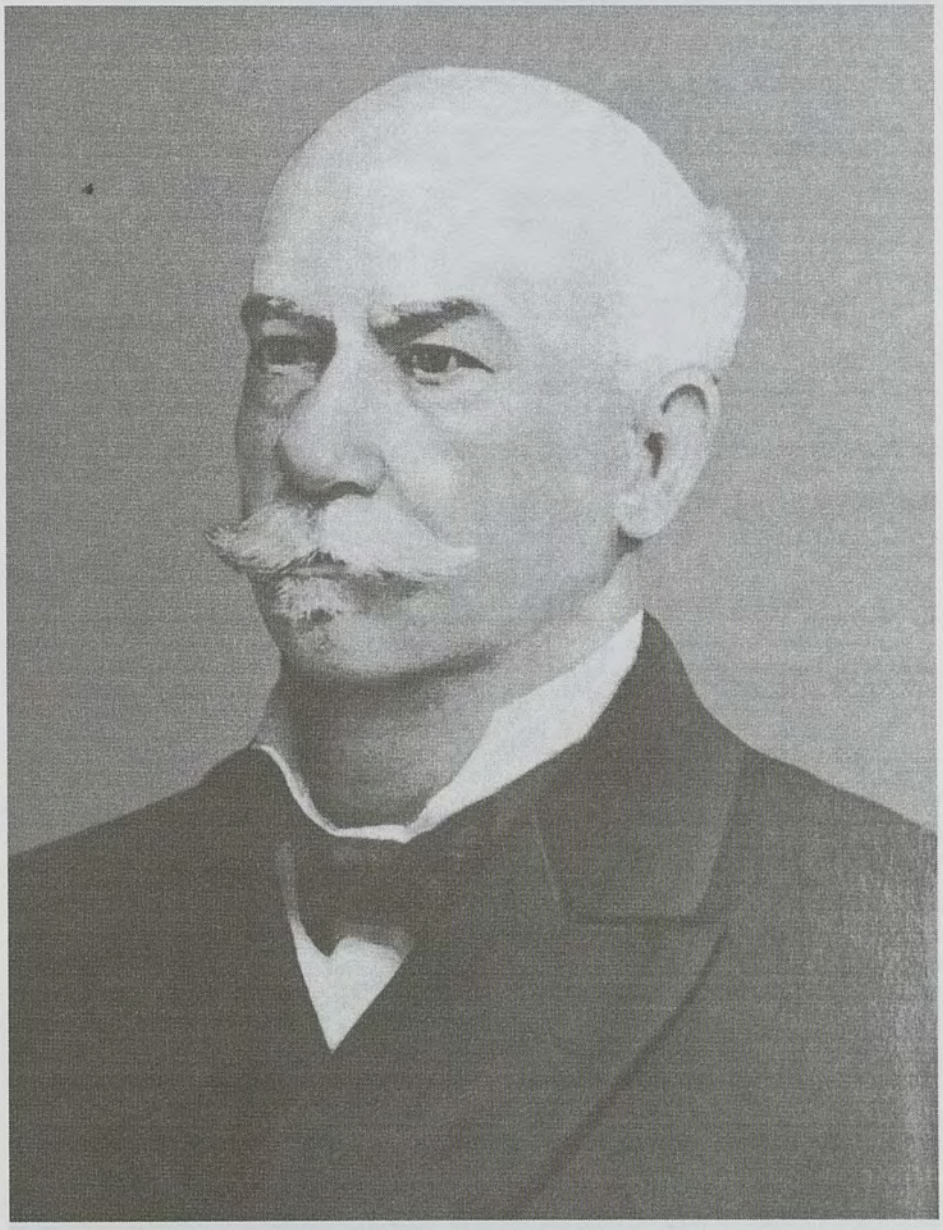
Foi a fase heróica da vida de Manguinhos, tendo ele, porém, continuado a se desenvolver depois, nas mãos dos sucessores de OSWALDO: CARLOS CHAGAS, CARDOSO FONTES, HENRIQUE ARAGÃO e OLYMPIO DA FONSECA, todos fiéis aos rumos tão seguros traçados pelo Mestre.

A seu tempo virá o histórico desta outra fase tão auspiciosa da sua existência.

O que foi até aqui exposto baseia-se em documentos existentes nos arquivos do Instituto, em outros postos gentilmente à nossa disposição por THEOPHILO DE ABREU, LUIZ DE MORAIS, ROCHA LIMA, OLYMPIO DA FONSECA, SOUZA-ARAUJO e EMMANUEL DIAS, acrescidos daqueles que possuimos e das recordações que guardamos de uma época intensamente vivida desde quasi os primeiros dias da instituição. A todos os que nos forneceram essa valiosa documentação aqui consignamos nossos mais sinceros agradecimentos, assim como deixamos ainda a expressão do nosso maior reconhecimento ao Dr. CASSIO MIRANDA, atual substituto do diretor do Instituto, pelo dedicado trabalho que tomou a si, fazendo minuciosa revisão e a necessária correção do texto desta despretenciosa narrativa.

Rio, Maio de 1950

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Barão de Pedro Affonso

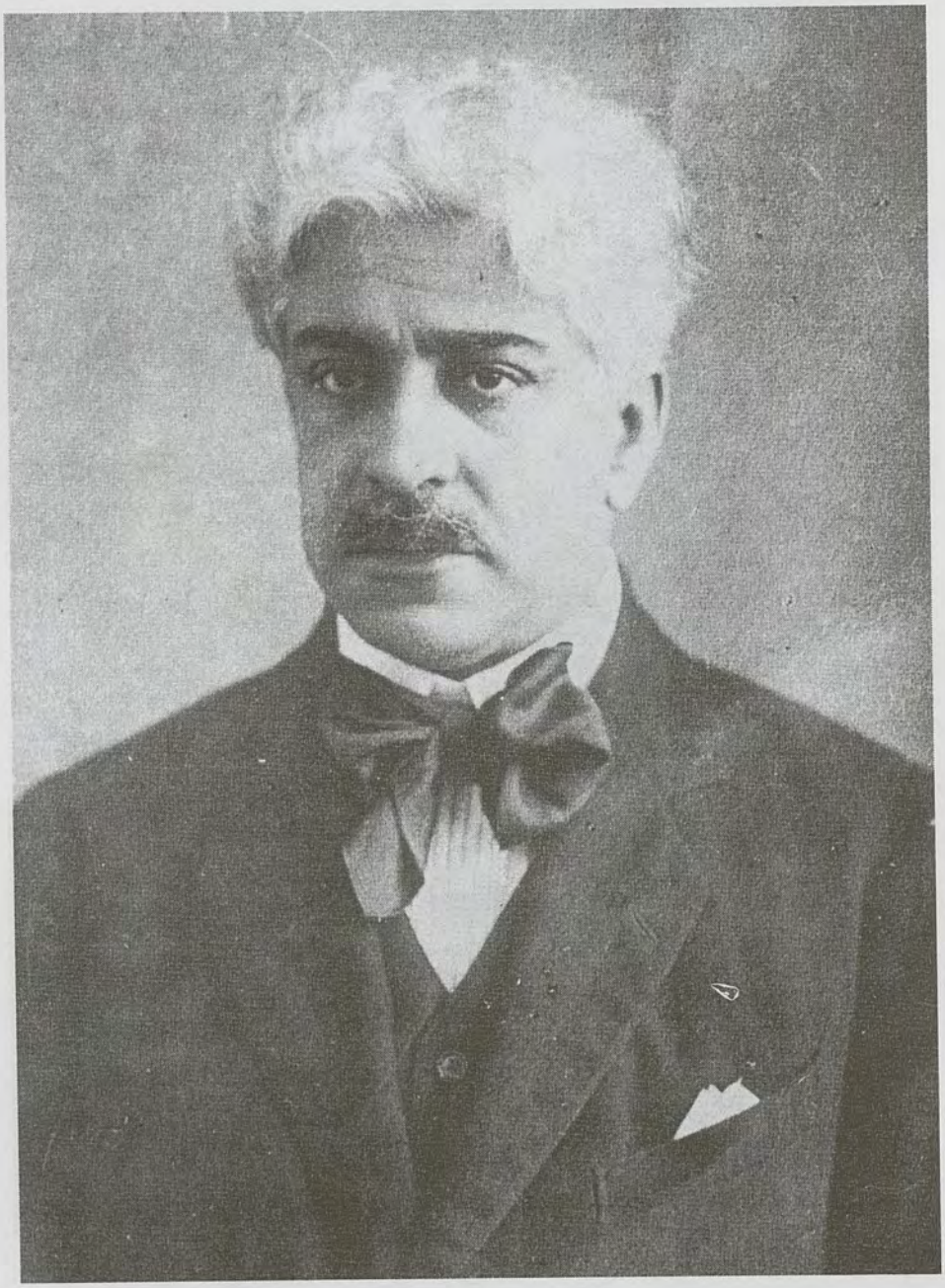
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz (1903)

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Oswaldo Cruz (1911)

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

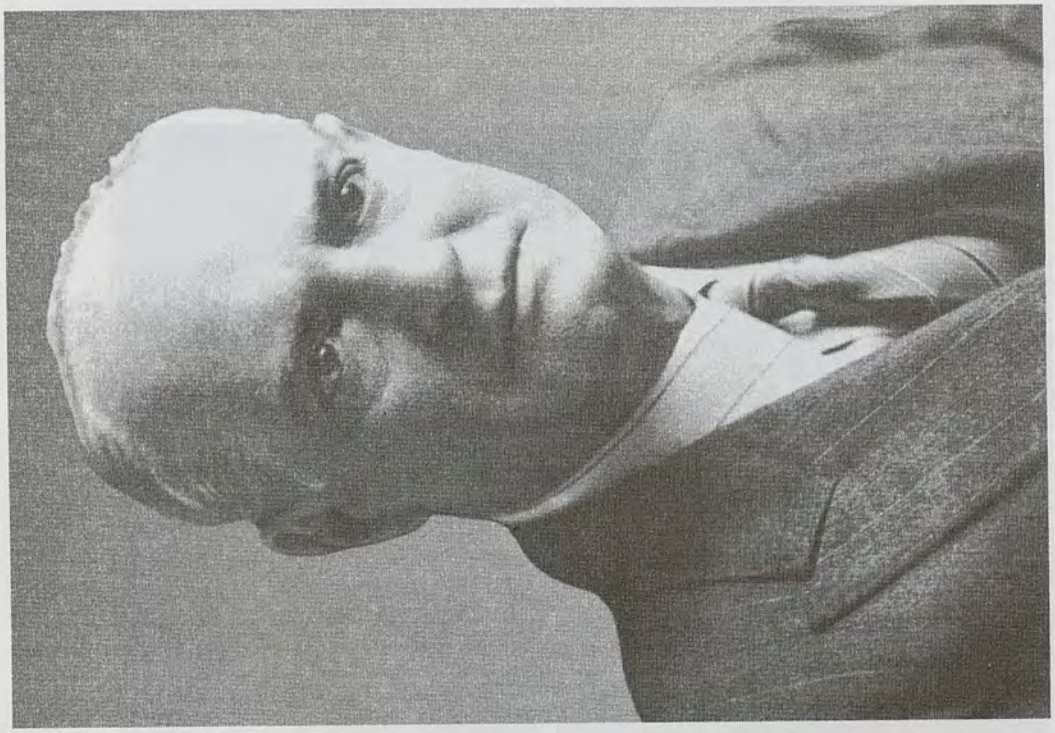


Oswaldo Cruz (1916)

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Oswaldo Cruz em 1910 em Porto Velho, no Rio Madeira, com Belisario Pena

Ismael da Rocha



Antonio Cardoso Fontes

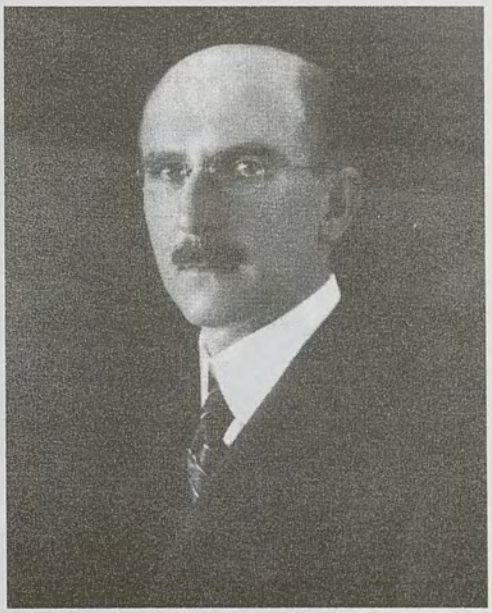
Carlos Chagas

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Henrique da Rocha Lima

Henrique de Figueiredo Vasconcelos

Alcides Godoy



Henrique Aragão

Adolpho Lutz

Ezequiel Dias

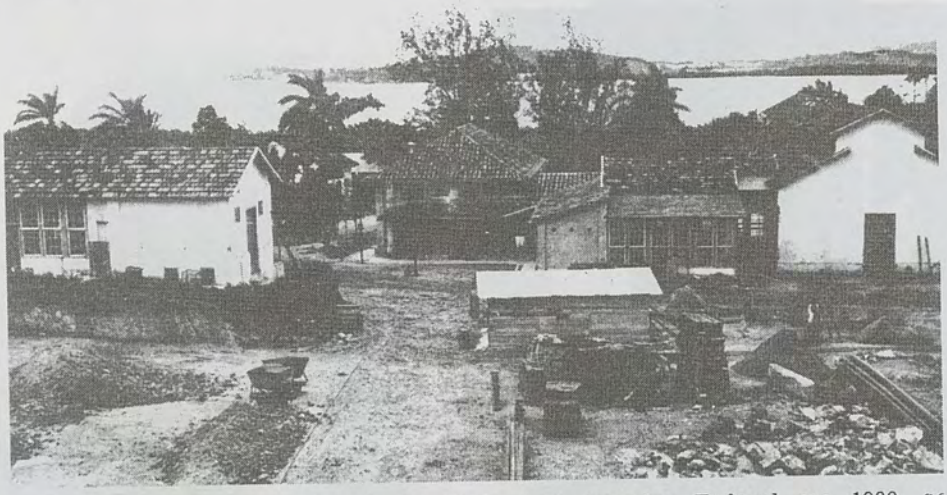
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Arthur Neiva

José Gomes de Faria

Gaspar Vianna

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

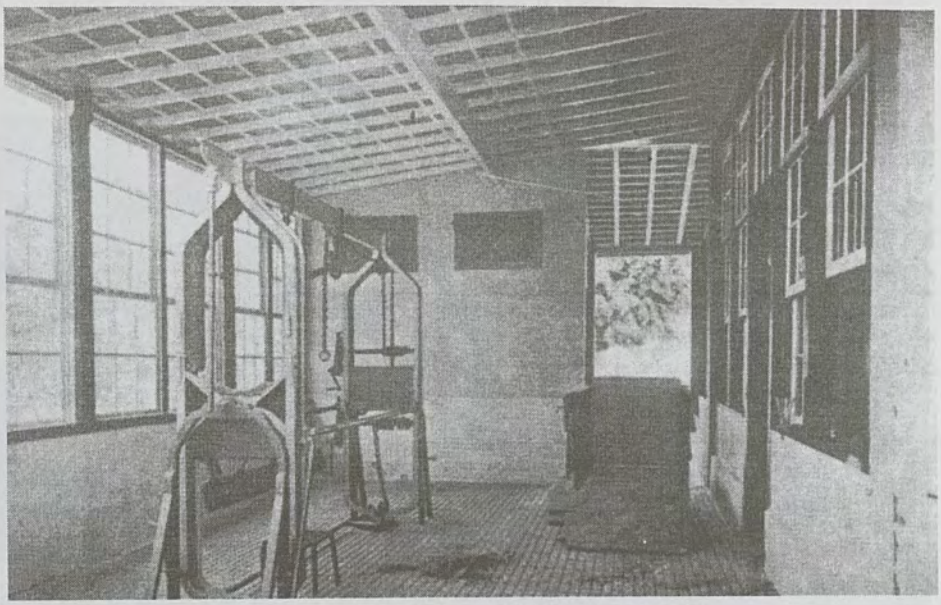


Vista geral das instalações do Instituto Soro-terapico Federal em 1900, ao centro o Laboratório, à direita a cocheira e à esquerda o biotério

A entrada do laboratório vendo-se Rocha Lima e Ezequiel Dias quando procediam a inoculação de um cavalo

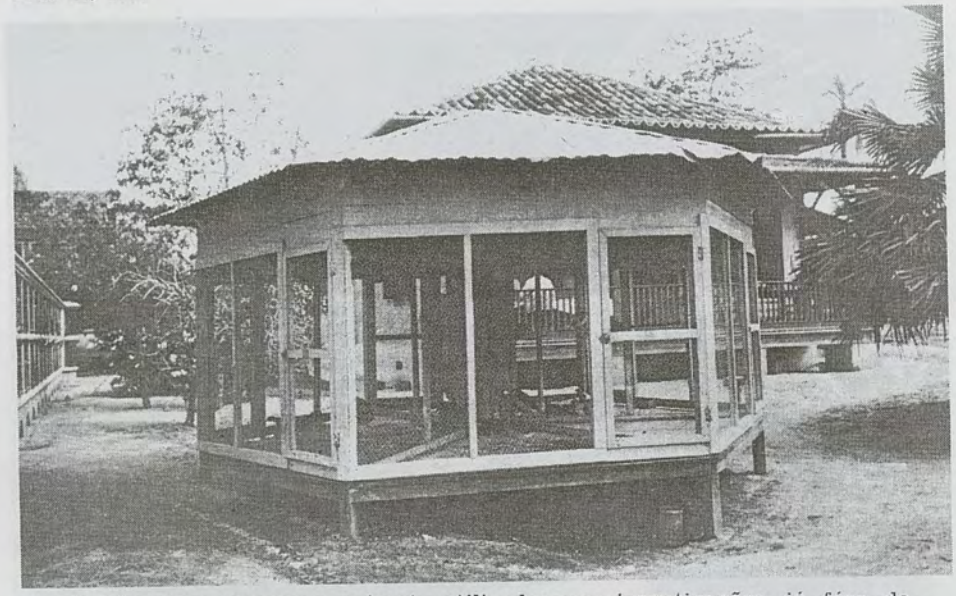
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

A varanda de entrada do laboratório



Sala de pesagem e sangria de animais

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Gaiola para pequenos animais utilizados nas investigações, já fóra da sua primitiva posição ao lado do laboratório

O primitivo laboratório com a varanda aos fundos e à esquerda o pequeno pavilhão com 2 laboratórios construídos em 1903

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

A varanda dos fundos do primitivo laboratório onde se almoçava numa parte e também se usava para criações de mosquitos e outros trabalhos

Grupo tirado em 1904 em que se veem Rocha Lima e os então estudantes de Medicina Borges da Costa, Waldemar Schiller, Parreiras Horta, Henrique Aragão e Affonso Mac Dowell

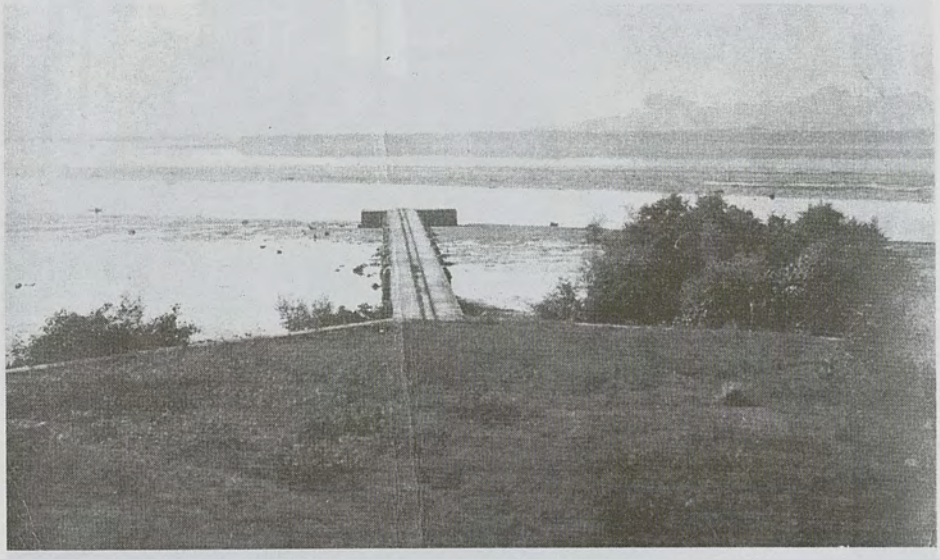
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

Vista tirada de Manguinhos para o mar, vendo-se no meio da vejetação a casinha em que foi instalado o segundo laboratório por ocasião da organização do Instituto Soroterápico em 1900

Vista tirada de Manguinhos em 1906, vendo-se o biotério mandado construir por Oswaldo e ao fundo as montanhas da Tijuca e uma parte dos suburbios da Central

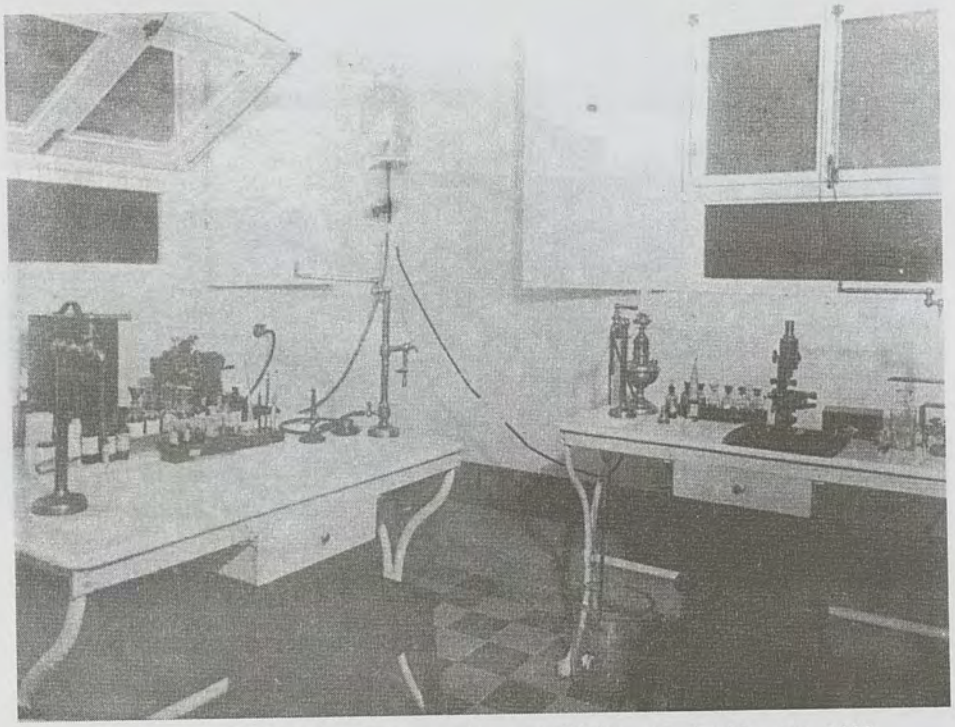
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

A primitiva ponte de acesso ao Instituto, no começo das obras em 1903



A segunda ponte mandada construir em 1904

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Canto de laboratório no pequeno pavilhão, construido em 1903

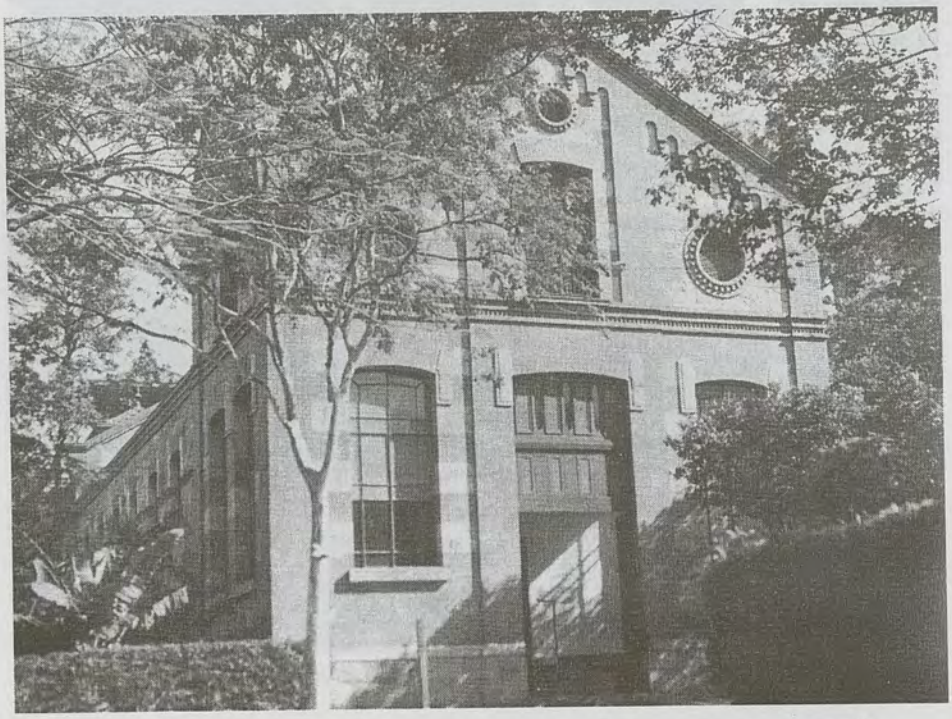
Gaiolas para pequenos animais construidas em 1904

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

O pavilhão construido em 1904 para os trabalhos com peste e outras investigações

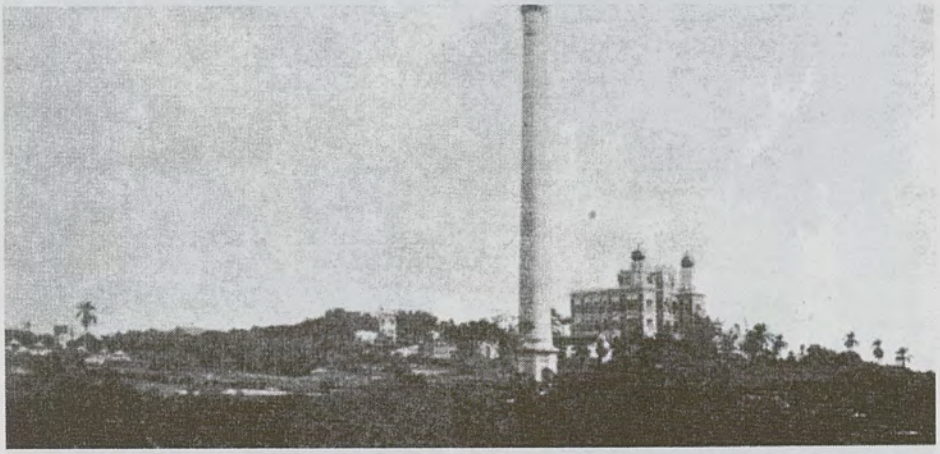
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

O prédio principal do Instituto em fase de acabamento em 1908, vendo-se a direita restos do antigo laboratório



Cocheira para os cavalos produtores de sôro, construida em 1904

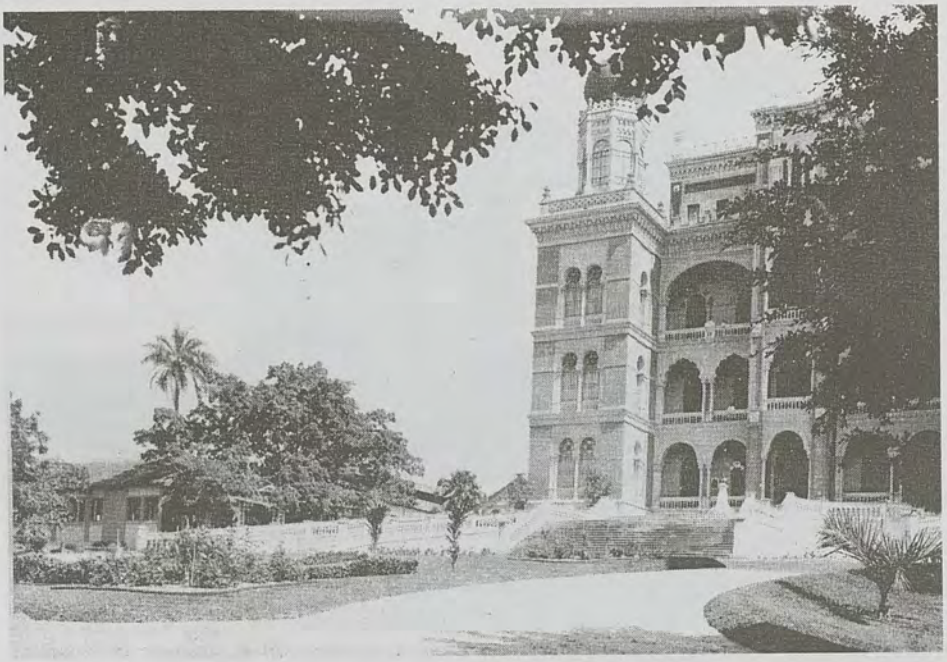
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Vista das construções de Manguinhos em 1910, com a chaminé dos fornos de cremar lixo no primeiro plano

Vista do Instituto quando completamente terminado

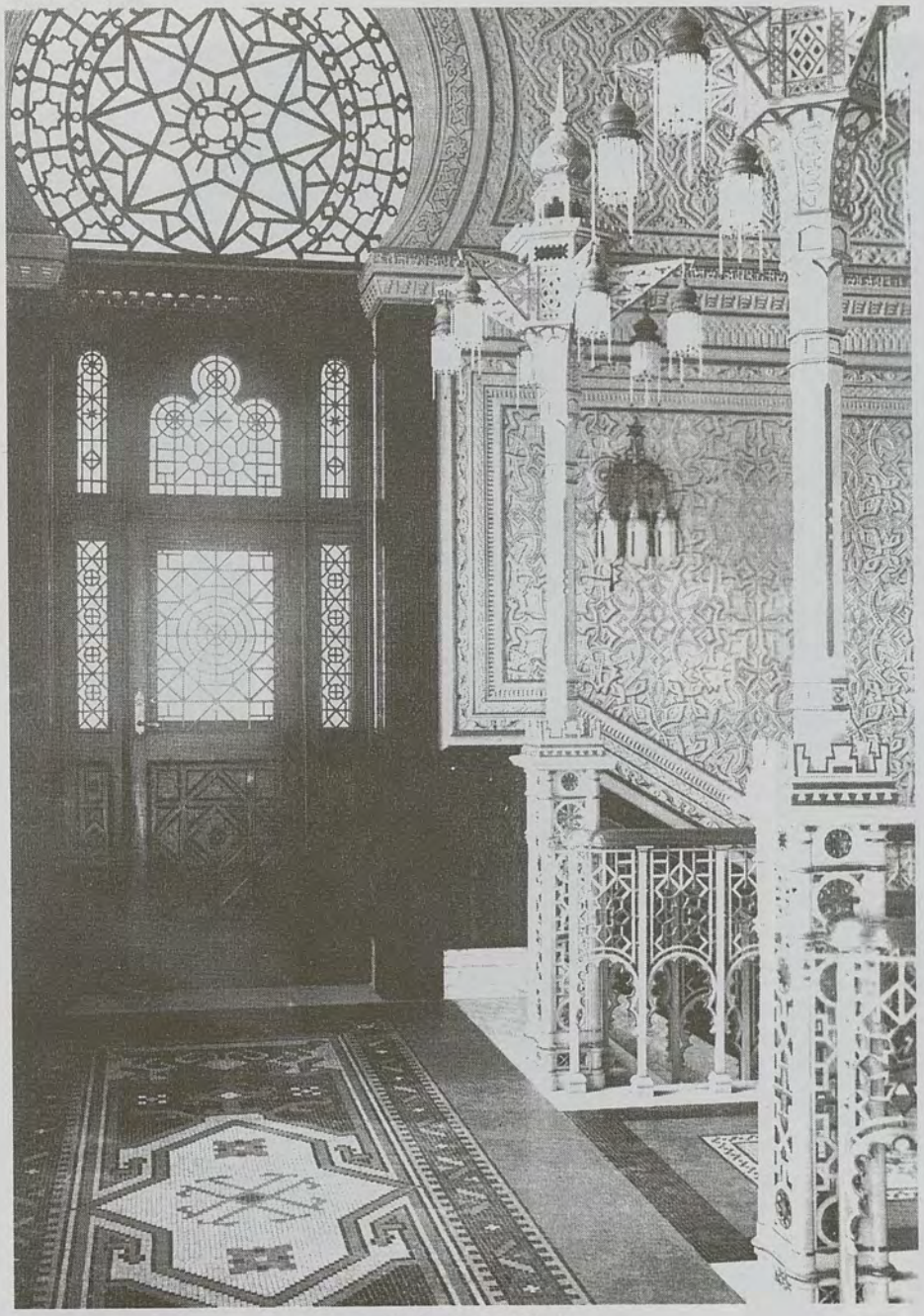
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Vista do Instituto com as suas escadarias de acesso e à esquerda quasi oculta pelas árvores a nova sala de refeições

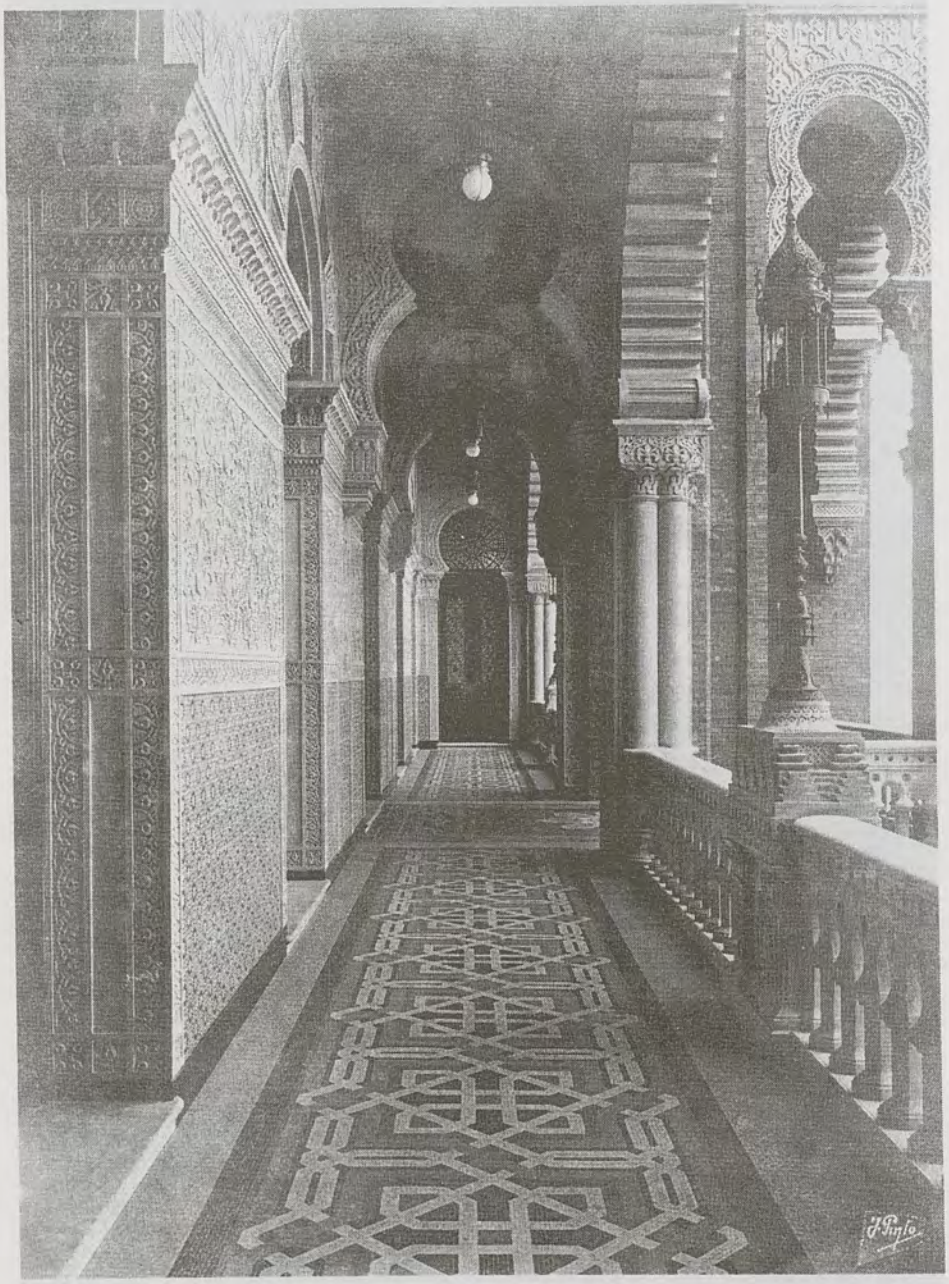
Sala de refeições que substituiu a primitiva na varanda do laboratório

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Hall do Instituto

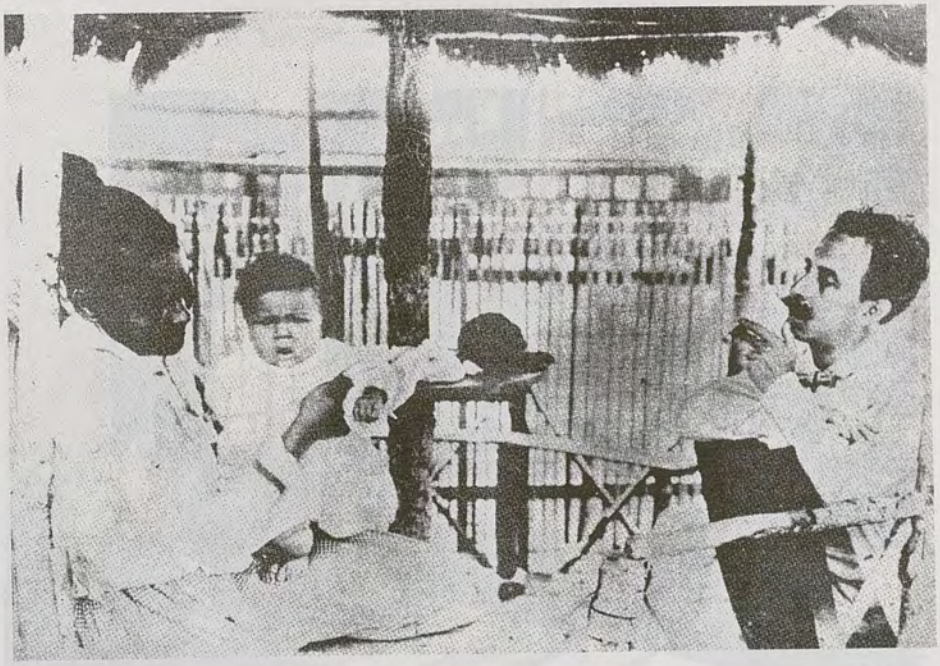
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Uma das varandas da fachada do Instituto

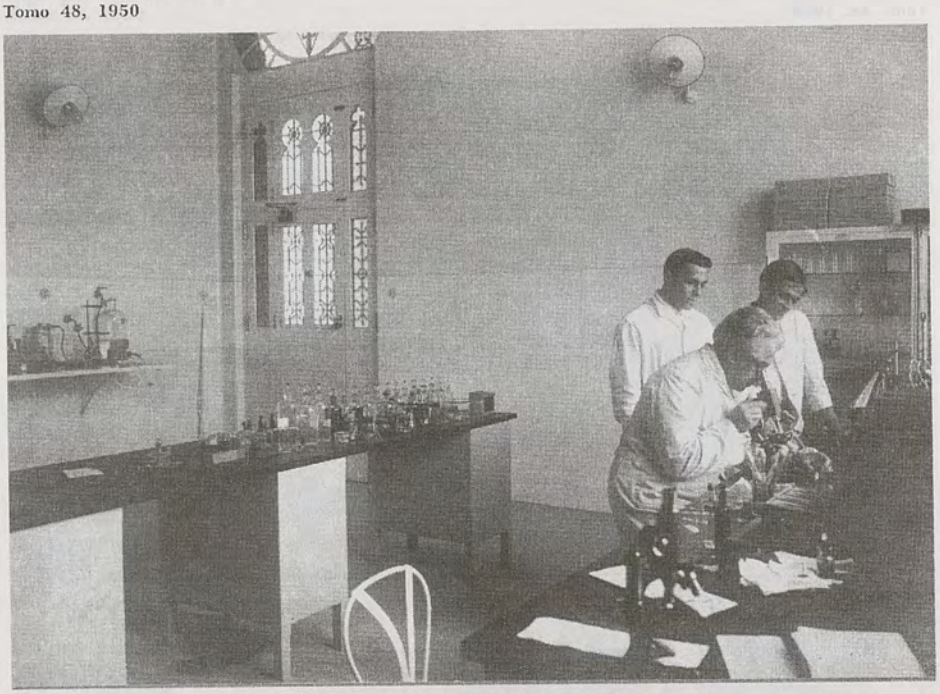
Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950

O primitivo laboratório de Lassance onde Chagas fez seus estudos sobre a tripanosomiase



Carlos Chagas dando consulta a um doentinho em Lassance em 1908

Mem. Inst. Oswaldo Cruz
Tomo 48, 1950



Oswaldo Cruz no seu laboratório com Burle de Figueiredo e seu filho Bento, mostrando-lhes preparações microscópicas

Aspecto de uma parte da biblioteca do Instituto vendo-se sentados Overmeer e Gomide

BRASILIENSIA DOCUMENTA

MODERATORE ET AUCTORE
EDGARD DE CERQUEIRA FALCÃO

VI

OSWALDO CRUZ MONUMENTA HISTORICA

TOMO II

A ESCOLA DE MANGUINHOS

SÃO PAULO - BRASIL

MCMLXXIII

Deste tomo, segundo da série consagrada à comemoração do centenário de nascimento de Oswaldo Cruz, transcorrido em 5 de Agosto de 1972, imprimiram-se dois mil exemplares, em papel ilustração superior, de fabricação nacional.

Contribuiram substancialmente para sua elaboração gráfica o Ministério da Saúde do Brasil, o Ministério da Educação e Cultura do Brasil (Departamento de Assuntos Culturais), o Conselho Nacional de Pesquisas, a Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo e a Secretaria de Higiene e Saúde do Município de São Paulo, distinguindo-se como eficientes cooperadores o Ministro Mário Machado Lemos, o Ministro Jarbas Passarinho, os Secretários de Saúde Getúlio de Lima Junior e Carlos da Silva Lacaz e a Sociedade Paulista de História da Medicina.

Desenhou, por gentileza, a capa e o dorso o artista beneditino Irmão Paulo Lachenmayer, O. S. B.

À memória do grande jornalista

CARLOS RIZZINI,

amigo e colaborador da primeira hora,

singelo preito de saudade.

E. C. F.

NOTA LIMINAR

Há cerca de doze anos, quando assumi o encargo de promover condignas homenagens à memória de GASPAR VIANNA, *reeditando-lhe todas as produções científicas* (Opera Omnia), *o que consegui realizar a minhas inteiras expensas, tive estreitadas minhas relações com o grupo veterano de Manguinhos.* MAGARINOS TORRES, LAURO TRAVASSOS, OLYMPIO DA FONSECA, filho (*), *dentre outros que vinham da era oswaldiana, forneceram-me subsídios altamente valiosos, que permitiram compor dados bio-bibliográficos fidedignos sobre a excelsa personalidade do descobridor da cura das leishmanioses.*

Nasceu, naquela época, em meu espírito, a idéia dum estudo retrospectivo da fase em que OSWALDO CRUZ, *arrostando toda a sorte de dificuldades, com inquebrantável fé nas verdades da ciência, seu lema predilecto* (**), *conseguiu, rodeado dum pugilo de jovens como ele, implantar a medicina experimental no Brasil.*

Àqueles colaboradores dos chamados "tempos heróicos", solicitei, então, que me dessem por escrito as suas reminiscências dos primórdios da instituição que se veio a chamar "Instituto Oswaldo Cruz" (Manguinhos). Os dois primeiros retro-enumerados prontamente satisfizeram meu pedido. O terceiro, porém, não pôde fazê-lo de imediato. O adiamento prolongado dessa promessa de informações tornou-se, entretanto, muito fruluoso para mim. Com efeito, ao programar o trabalho monumental que assinalaria o transcurso do centenário de nascimento de OSWALDO, *em Agosto de 1972, voltei a insistir junto a* OLYMPIO, *já agora com o propósito de apresentar, feita por ele, toda a história da obra realizada pelo saneador do Rio de Janeiro e seus continuadores.*

Profundamente conhecedor de tudo quanto se passou em Manguinhos nas sete décadas decorridas desde sua fundação, participante esclarecido que foi dessas actividades dentro e fora do Brasil, traçou OLYMPIO DA FONSECA, filho, *soberbo apanhado dos resultados colhidos nos diferentes ramos em que se multiplicaram as pesquisas originais levadas a cabo, consagradoras de altos feitos da cultura científica brasileira. Nessa síntese admirável, que se lerá a seguir, perpassam todas as figuras gigantes, que, no silêncio dos laboratórios, sem alarde, cimentaram o elevado conceito, hoje universal, dos trabalhos iniciados sob a orientação de* OSWALDO e *prosseguidos pelos seus discípulos da primeira hora:* ROCHA-LIMA, CHAGAS, NEIVA, ARAGÃO, GOMES DE FARIA *e tantos outros.*

(*) OLYMPIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA, também conhecido como OLYMPIO DA FONSECA, filho, costuma assinar trabalhos científicos muitas vezes apenas como O. DA FONSECA.

(**) No *ex libris* que adoptou, acha-se isso assim enunciado: "Na ciência fé eterna".

Além de especificar, ponto por ponto, os estudos que chegaram a conclusões precisas, esclareceu OLYMPIO *factos que ficariam para sempre olvidados, se a sua retentiva fidelíssima não os trouxesse à baila, com a exactidão com que foram rememorados. Graças a êle, portanto, a história da Escola de Manguinhos, referta de grandes vitórias e descobertas sensacionais, acha-se para sempre gravada com absoluta autenticidade.*

Não se contentou, todavia, o narrador, em apresentar os trabalhos executados no âmbito dos laboratórios. Encarregado de missões médico-sanitárias devassadoras do território brasileiro e de investigações fora do país, publica ele agora, na íntegra, as anotações diárias e os relatórios pormenorizados referentes a tais excursões. E aponta a expansão que a Escola de Manguinhos teve em diferentes Estados da União.

Como complemento ao exaustivo estudo de OLYMPIO DA FONSECA, filho, *julguei conveniente acrescentar elementos, que, por sua vez, documentam diversos outros acontecimentos ligados a Manguinhos. Tais são as cartas inéditas de* OSWALDO *para* ROCHA-LIMA, *no espaço de 15 anos (1901-1915), as memórias de* ROCHA-LIMA (Com Oswaldo Cruz em Manguinhos), *artigos publicados num jornal boliviano que foram fonte de consulta para* RUY BARBOSA, *ao elaborar a famosa conferência pronunciada no Teatro Municipal do Rio de Janeiro, em 28 de Maio de 1917, e o* Panorama Sanitário Brasileiro, *traçado pela pena de* OLYMPIO DA FONSECA, filho, *divulgado há poucos anos atrás.*

Ao encerrar esta nota, reafirmo meu profundo agradecimento a todos aqueles que me auxiliaram decisivamente na elaboração dos três tomos de Oswaldo Cruz Monumenta Historica, *já mencionados nos volumes anteriores saídos do prelo e na justificação de tiragem desta edição. A todos esses colaboradores, e, particularmente, a sete grandes amigos que outrotanto me ajudaram, cujos nomes aqui inscrevo, como prova de infinito reconhecimento,* VICTOR HOMEM DE MELLO, OTTO GUILHERME BIER, TITO LOPES DA SILVA, PAULO DE ALMEIDA TOLEDO, MANOEL FROTA MOREIRA, JOSÉ ANTONIO ALVES DOS SANTOS *e* CARLOS DA SILVA LACAZ, *o meu coração gratíssimo.*

A OLYMPIO DA FONSECA, filho, *imorredouro apreço e gratidão.*

Santos, 21 de Janeiro de 1973.

E. C. F.

OLYMPIO DA FONSECA, filho

A ESCOLA DE MANGUINHOS

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO DA MEDICINA EXPERIMENTAL NO BRASIL

MCMLXXIII

A ESCOLA DE MANGUINHOS

OLYMPIO DA FONSECA, filho

Duas realizações que têm surpreendido visitantes estrangeiros e conhecedores do Brasil em diversos países, se verificaram entre nós no primeiro quartel do século XX: a Missão Rondon, que devassou os sertões do Centro-Oeste do Brasil, e a criação duma instituição de pesquisa científica que rapidamente adquiriu reputação e prestígio internacionais, o Instituto Oswaldo Cruz. E, tanto isso é verdade que, nos últimos anos, em diversas ocasiões, vimos aqui chegarem, enviados por diferentes organizações universitárias, vários historiadores americanos da ciência e da medicina vindos para investigarem as causas e as condições que determinaram e permitiram se tivesse conseguido criar aqui um tal centro de investigações.

Nos trabalhos de EZEQUIEL CAETANO DIAS (1), de PHOCION SERPA (2), de E. SALLES GUERRA (3) e de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ROHAN ARAGÃO (4), bem como em outras publicações, dentre as quais se destacam as de JOSÉ ANTONIO DE ABREU FIALHO (5), de HENRIQUE DA ROCHA-LIMA (6) e de THALES MARTINS (7), se podem encontrar informações minuciosas sobre os primórdios da organização do Instituto Oswaldo Cruz e sobre o gradual aperfeiçoamento de seus principais serviços. Esses trabalhos constituem, além do mais, um valioso manancial de dados sobre a personalidade humana e científica de OSWALDO CRUZ. Os livros de SALLES GUERRA e de PHOCION SERPA são biografias autorizadas que, entretanto, pouca coisa encerram que diga respeito às pesquisas científicas realizadas em Manguinhos. Nestas, como, aliás, em todas as biografias que conhecemos de OSWALDO CRUZ, há uma deficiência de informações sobre as actividades deste durante seu estágio de estudos e de aperfeiçoamento em Paris, em fins do século passado. Pessoalmente, nos apercebemos dessa lacuna, por não encontrarmos em qualquer daqueles escritos referência a ANTONIN PIERRE MIQUEL, na época a maior autoridade francesa sobre microbiologia do solo, do ar e da água, que trabalhava no Observatório Meteorológico de Montsouris em Paris. Ora, não só OSWALDO CRUZ escolhera como assunto de sua tese de doutoramento a microbiologia da água e cita a cada passo os trabalhos de MIQUEL, como, ao construir a sede do Instituto de Manguinhos, que é hoje apenas o seu prédio central, um dos cinquenta e seis pavilhões que tem agora o Instituto, tomou evidentemente por modelo, praticamente fazendo copiar-lhe todos os pormenores arquitectônicos, o edifício daquele observatório parisiense. O estilo, no sentido próprio, exótico, do prédio central de Manguinhos, tem sem dúvida alguma esta origem, sendo fantasiosas as explicações que se tem dado de sua escolha, pela influência que, sobre a imaginação ao mesmo tempo criadora e sonhadora de OSWALDO CRUZ, teria tido a arte da Granada mourisca, ou, ainda, de um imaginado influxo ancestral que se teria exercido sobre o distinto arquitecto português LUÍS DE MORAES, que traçou os planos e dirigiu as obras de construção do edifício central (8).

(1) *O Instituto Oswaldo Cruz. Esboço histórico* (1899-1918). Manguinhos, Rio de Janeiro, 1918, 100 pp., ilustr.

(2) *A vida gloriosa de Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro. Ed. do Ministério de Educação e Saúde, 1937, 1 vol., 395 pp.

(3) *Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro, Casa Editora Vecchi, Ltda., 1940, 1 vol., 723 pp.

(4) *Notícia histórica sobre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz (Instituto de Manguinhos).* Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1950, t. 48, pp. 3 — 50, ilustr.

(5) *O Instituto de Manguinhos.* Brazil-Medico, a.XX (t.44), pp. 451-460, ilustr.

(6) *Com Oswaldo Cruz e Manguinhos.* Anhembi, a.II, n.º 16 (vol. 6), pp. 27-55, Março de 1952.

(7) *A Biologia no Brasil.* In FERNANDO AZEVEDO: *As ciências no Brasil,* s/data, 2 vols., Edições Melhoramentos. Cf. vol. II, 201-259.

(8) Judiciosamente, em seu trabalho anteriormente citado sobre *A Biologia no Brasil,* escreve THALES MARTINS: "... diz-se que MORAIS tinha ascendência árabe, o que poderia explicar sugestão sua, mas não o mestre ter aceito tão inusual estilo para uma casa de ciência,"... (l.c., pág. 226).

Há também quem explique a escolha do estilo do edifício central do Instituto pela convicção de OSWALDO CRUZ, de que

O "esboço histórico", como o qualificou o seu autor, de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, encerra dados relevantes sobre meio século de actividades do Instituto Oswaldo Cruz, além de apreciações e recordações pessoais que têm um grande valor, por serem de quem são, duma testemunha de quase todos os factos relatados, ao mesmo tempo que um dos principais construtores da obra científica de Manguinhos. A conferência pelo mesmo autor realizada em 1940, no Centro Acadêmico Oswaldo Cruz, de São Paulo, sobre o tema "Oswaldo Cruz e a Escola de Manguinhos", embora necessariamente uma exposição mais sumária, é orientada no mesmo sentido. É ainda de ARAGÃO o ensaio publicado em 1953 nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (t. 51: 1-10), sob o título "Carlos Chagas, Diretor de Manguinhos". Nesse trabalho se encontram reunidos muitos dados suplementares sobre a história do Instituto, a qual, graças aos escritos de ARAGÃO, baseados no estudo minucioso dos arquivos, se pode considerar completa, em tudo o que se refere à organização administrativa e à composição dos quadros técnicos de pessoal.

Quando o Instituto principiava a se organizar, era ROCHA-LIMA quem, dentre os discípulos e colaboradores de OSWALDO CRUZ, mais deste se aproximava pela experiência e pelos conhecimentos especializados que ambos tinham adquirido em prestigiosos centros de pesquisa de medicina experimental da Europa, um na França e outro na Alemanha. Assim sendo, a ROCHA-LIMA foram em grande parte atribuídas incumbências no adestramento dos pesquisadores mais jovens. Em 1910, deixou ele definitivamente o Instituto do qual já estava desde o ano anterior afastado, ao ir ocupar o cargo de 1.º assistente do Instituto de Patologia da Universidade de Iena. É que aceitara o convite para ser o chefe do serviço de anatomia patológica do Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo, cargo que exerceu durante dois decênios e, depois, o de professor catedrático daquela especialidade na Universidade de Hamburgo. Voltando para o Brasil, com esta singular formação e experiência, durante cerca de vinte anos ROCHA-LIMA dirigiu o Instituto Biológico de São Paulo. Não é, pois, de admirar que seja de um valor extraordinário o depoimento que presta ROCHA-LIMA, no artigo que, em 1952, publicou em *Anhembi*, a prestigiosa revista de cultura, única no gênero no Brasil, dirigida por PAULO DUARTE, mas, infelizmente, hoje desaparecida na voragem que tem consumido tantos outros empreendimentos idealistas de intelectuais brasileiros. Mais ainda que esse depoimento valem no artigo de ROCHA-LIMA as considerações que faz sobre a formação de pesquisadores, não só no Brasil como em quaisquer outros países.

Em época muito mais recente, THALES MARTINS contribuiu para o livro de FERNANDO AZEVEDO — *As ciências no Brasil*, com um excelente capítulo sobre "A biologia no Brasil". Aí se encontra sumariamente apreciada a obra científica de quase todos os pesquisadores de Manguinhos até a época daquela publicação.

Com excepção desta última contribuição não nos parece que se tenha até agora procurado analisar e historiar, não as origens já agora bem conhecidas, do Instituto Oswaldo Cruz, mas, sim, as da *escola científica* em que ele se constituiu. Tais origens se podem traçar a outras instituições, sobretudo européias, que para aqui tiveram transplantadas algumas de suas mais respeitáveis tradições de técnicas, de orientação e de métodos de trabalho. Tampouco, nenhum escrito conhecemos em que se tenha empreendido uma apreciação crítica das realizações científicas de Manguinhos e de sua contribuição, ainda que modesta, para a construção da ciência contemporânea.

Por isso, quando o ilustre historiador e médico, Dr. EDGARD DE CERQUEIRA FALCÃO, pediu nosso testemunho e o registo de nossas recordações pessoais sobre OSWALDO CRUZ e a instituição que lhe perpetua o nome, achamos que o tema mais indicado seria esse não abordado pelos anteriores historiógrafos de Manguinhos.

Duas outras circunstâncias pareciam ainda indicar a oportunidade de um tal estudo. A primeira é que se completaram mais de setenta anos de actividade científica em Manguinhos, período suficientemente longo para que se possa aquilatar do valor da obra realizada. A segunda circunstância, que só depois de iniciada a redacção do presente trabalho veio a ocorrer, é a modificação radical do regime administrativo do Instituto Oswaldo Cruz, decretada em Maio de 1970 pelo governo federal, transformando-o de órgão de administração directa

---

era necessário chamar atenção do público leigo para o Instituto, dando à sua sede uma aparência espectacular.

A propósito do estilo adoptado na construção do prédio central do Instituto, vale a pena citar o que escreveu um médico e homem de letras de grande destaque, PEDRO BLOCH (*Vida e obra de Angelo Moreira da Costa Lima*, Rio, Conselho Nacional de Pesquisas, 1 vol., 129 pp. Cf. pág. 39), que bem exprimiu a sensação que se apoderava de quem pela primeira vez descobria, na até há pouco rústica paisagem, o monumental castelo mourisco: "... visão que agride a paisagem. Um enorme palácio mourisco. Que tem aquilo a ver com o resto da cidade? Que incoerência fez aquele berro arquitectônico fugido de alguma capital do Oriente?

"Aquilo é o Instituto Oswaldo Cruz, de gloriosa história, centro científico respeitado e honrado em todos os cantos da terra".

do Ministério da Saúde (como antes o fora do Ministério de Negócios do Interior e Justiça e, depois, do Ministério da Educação e Saúde), em entidade de direito privado, como uma "fundação" (9). Feito um balanço do que no passado pôde o Instituto executar como órgão subordinado a um dos ministérios, será possível comparar os resultados com os que deverá colher a instituição agora dotada de autonomia própria, autonomia de uma fundação, autonomia, que, bem o sabemos, será forçosamente relativa, enquanto não apoiada em recursos financeiros próprios e numa total liberação dos laços que a prenderão ainda, como órgão governamental.

Estamos bem convencido de que não é fácil a apreciação e a avaliação da parcela com que, para o resultado global, contribuiu cada um dos colaboradores e discípulos de OSWALDO CRUZ e cada um dos principais continuadores destes últimos. Também não nos julgamos isento dos desaprumos da parcialidade, embora neste trabalho tenhamos procurado dela nos libertarmos o mais que nos foi possível. Por tudo isso, não temos dúvida que se hão de encontrar neste trabalho erros de apreciação e não poucas omissões, estas quase nunca voluntárias e, quando o sejam, motivadas por considerações superiores.

Não foi nossa intenção, e julgamos não teria qualquer cabimento, fazer o panegírico de uma obra para a qual, embora, em mínima parte, contribuimos e à qual estamos inevitavelmente associado. Poderá ser considerado este, quando muito, um escrito apologético, no sentido teológico do qualificativo: de explicação, de justificação e, quando necessário, de defesa. Mas, na realidade o que desejaríamos é que pudesse ser considerado um ensaio crítico imparcial.

Na conferência pronunciada em 5 de Agosto de 1972, no Teatro Municipal do Rio de Janeiro, por ocasião da abertura do XII Congresso Nacional de Medicina e do V Congresso da Associação Médica de Língua Portuguesa (AMELPO), comemorativos do centenário do nascimento de OSWALDO CRUZ, tivemos ocasião de dizer: "... monta hoje a mais de oito mil títulos a contribuição que à bibliografia científica e médica trouxeram os técnicos de Manguinhos, essas centenas de pesquisadores que, durante quase três quartos de século, passaram pelos laboratórios, hospitais, filiais, postos e acampamentos do Instituto Oswaldo Cruz em vastas áreas do território nacional e não raro pelos países vizinhos. Tais trabalhos, em sua imensa maioria constituem contribuições originais, cujo vulto e importância são naturalmente muito variáveis. Abrangem eles quase todos os ramos da medicina experimental e não poucos da medicina clínica, além da exploração de muitos capítulos da biologia que não têm aplicação médica directa. Desde os estudos sobre citologia de protozoários até os aspectos clínicos e físio-patológicos da tripanossomose americana ou doença de Chagas; desde os trabalhos sobre a sintomatologia e a natureza etiológica de várias dermatoses, até os aprofundados estudos sobre a fauna brasileira de helmintos e de insectos hematófagos; desde as primeiras pesquisas realizadas no Brasil com o emprego da microscopia electrônica até os estudos sobre a sistemática dos protozoários parasitos e de vida livre; desde investigações sobre ecologia e fitogeografia, até pesquisas sobre cronaxia e outros aspectos da fisiologia nervosa; desde os trabalhos relativos à etiologia e à anatomia patológica da febre amarela, até as primeiras investigações sistemáticas realizadas no Brasil sobre plancton e outros assuntos de biologia marinha; desde a epidemiologia da malária até a investigação das origens dos nossos indígenas através dos dados da parasitologia. Tudo isto constitui um vasto e complexo acervo que a uma única pessoa é quase impossível analisar e que só quem acompanhou de perto o seu crescimento pode até certo ponto avaliar".

EXPLICAÇÃO PRÉVIA

Esta "explicação prévia" tem a mesma justificativa da que HENRIQUE DA ROCHA-LIMA se julgou obrigado a dar no artigo que, em 1952, publicou em *Anhembi* sob o título "Com Oswaldo Cruz e Manguinhos". Disse então o grande patologista: "Muito depende, porém, o valor e a apreciação de um depoimento, da qualificação da testemunha, não só quanto à sua idoneidade, mas muito especialmente quanto ao grau de sua ligação com o objecto narrado. Tais relações, quando bastante íntimas, induzem a que se lhes conceda mais atenção do que só por si possam merecer, o que justifica até certo ponto a referência inicial à testemunha e sua quiçá demasiada participação no quadro que enfeixa estas reminiscências dos primórdios da era de OSWALDO CRUZ".

Se não fora demasiada pretensão nossa, ao iniciarmos o presente ensaio, poderíamos repetir as

(9) Por poucos meses esteve o Instituto integrado na então Universidade do Brasil.

palavras com que JULES MICHELET abriu o prefácio do décimo e último volume de sua monumental *História da Revolução*: "L'âge me presse".

De facto, entrando em 1913, como aluno do Curso de Aplicação do Instituto Oswaldo Cruz, onde até hoje trabalhamos, não poderíamos prever que, sessenta anos depois, nos seria dado apreciar a obra científica lá realizada em mais de dois terços de século.

Em 1912, procuramos OSWALDO CRUZ, a fim de nos inscrevermos no Curso do Instituto. A ele fomos apresentado pelo então Professor extraordinário, i.e., substituto, ANTONIO PACHECO LEÃO, colaborador de OSWALDO CRUZ na campanha de saneamento do Rio de Janeiro e em outros empreendimentos de higiene e de saúde pública em vários pontos do nosso País, mais tarde director do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, e com quem trabalhávamos no Gabinete de História Natural da então Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro.

No Instituto, esperava-nos OSCAR D'UTRA E SILVA, como nós estudante de medicina e que viera, trazido por GASPAR VIANNA, do Hospital Nacional de Alienados, o velho Hospício da Praia Vermelha, viveiro que foi de ilustres médicos e pesquisadores que constituiam a prestigiosa escola psiquiátrica chefiada por JULIANO MOREIRA e da qual foram representantes notáveis ANTONIO AUSTREGÉSILO, AFRÂNIO PEIXOTO, PEDRO PERNAMBUCO, RAUL LEITÃO DA CUNHA, GASPAR VIANNA, ULYSSES VIANNA, UMBERTO GOTUZZO, ADAUCTO BOTELHO, GUSTAVO RIEDEL, FAUSTINO ESPOSEL, HEITOR CARRILHO, COLLARES MOREIRA, COSTA RODRIGUES e tantos outros que ilustraram ou ainda ilustram a medicina brasileira.

Chegávamos tarde para nos matricularmos no curso daquele ano, em que todas as vagas já estavam preenchidas. Desde logo, entretanto, OSWALDO CRUZ prontificou-se a nos fazer inscrever no curso seguinte, o de 1913/1914. Imediatamente aceitamos a alternativa e não tivemos razões para lamentarmos o adiamento dos nossos projectos. De facto, o curso de 1913/1914 marcou o início de uma nova fase na formação de técnicos pelo Instituto Oswaldo Cruz: novas instalações, no edifício central de estilo mourisco, então ainda inacabado; um programa ampliado e rígido desenvolvido em quatorze meses ininterruptos e impresso com a indicação dos professores responsáveis pelo ensino de cada uma de suas partes; logo depois, a implantação do regime de provas para verificação do aproveitamento e classificação dos alunos, eliminação daqueles que em todo o curso tivessem faltado a mais de dez aulas e, o que no Brasil não era e nunca foi desprezível e desprezado, a instituição de um certificado sob a forma de artístico diploma pergaminhado, atribuído àqueles que terminavam o curso com as necessárias qualificações de frequência e aproveitamento, isto é, geralmente, entre um terço e metade dos que o tinham iniciado. Além de tudo isso, foi o curso de 1913/1914 o único em que toda a parte de Protozoologia foi leccionada por CARLOS CHAGAS, privilégio e circunstância que viriam a ter influência decisiva em nossa orientação científica e em toda a nossa carreira profissional.

Também sob outros aspectos não perdêramos a viagem. Recebera-nos OSWALDO CRUZ, com a discreta afabilidade que lhe era própria, à hora do café, que então era servido no antigo refeitório, grande carramanchão, ainda hoje existente, aberto por todos os lados e levantado em torno de uma velha e frondosa figueira benjamínea, onde àquela hora se reuniam todos os técnicos e os poucos funcionários administrativos do Instituto. Pudemos então conhecer o ambiente em que por tantos anos iríamos viver e trabalhar. E outra impressão guardamos até hoje dessa primeira visita ao Instituto: enquanto esperávamos ser atendido pelo Mestre, ver a ele chegar-se uma celebridade mundial da época, o Professor HERMANN DUERCK, famoso pela descoberta que fez do granuloma malárico cerebral que leva o seu nome, granuloma de Duerck. O grande patologista alemão, que de sua passagem por Manguinhos praticamente não deixou vestígios, partia com seu assistente para uma caçada pelos arredores...

No longo período desde 1913, nossa permanência no Instituto só foi interrompida pelas viagens que em missão fizemos pelo interior do Brasil e no estrangeiro, bem como durante a ditadura de VARGAS, no período do chamado "Estado Novo". De facto, em 1937, nos vimos impedido de continuar a frequentar o Instituto, em decorrência da atitude assumida pelo então director de Manguinhos, que nesse posto sucedera a CARLOS CHAGAS. Continuamos então a pesquisar e a ensinar na cátedra de Parasitologia da Faculdade Nacional de Medicina que, por concurso, desde 1933, ocupávamos. Em 1946, retornando o País ao regime constitucional, fomos reconduzido, embora em disponibilidade, ao cargo que dantes exercíamos. Já então na gestão de outro director, a quem mais tarde viríamos a suceder na direcção do Instituto Oswaldo Cruz, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ROHAN ARAGÃO, voltamos a trabalhar em Manguinhos, lá procurando retomar as actividades interrompidas oito anos antes. Entretanto, como era natural depois dessa longa embora involuntária ausência,

estava ocupado o nosso antigo laboratório. Nele continuava alojada a colecção de culturas vivas de cogumelos que, durante dois anos, organizáramos na Europa e nos Estados Unidos e que fora por nós em Manguinhos grandemente aumentada em quinze anos de trabalho assíduo e que constituia então uma das grandes micotecas do mundo com mais de 2600 amostras. Estava essa colecção já agora entregue a outro técnico, a quem iniciáramos na especialidade, o qual opôs todas as dificuldades e os maiores obstáculos à retomada dos nossos estudos. Essas circunstâncias nos obrigaram a desviarmos a atenção das investigações especializadas que antes nos ocupavam no campo da micologia. Passamos então a mais profundamente estudar certos problemas de parasitologia geral e comparativa que havia muito nos atraiam e que já antes abordáramos, problemas esses que têm sem dúvida um alcance científico muito mais amplo, embora sejam de interesse médico mais reduzido.

Assim sendo, em mais de meio século pudemos acompanhar de perto a evolução da Escola de Manguinhos, conhecer, não raro presenciando-as ou nelas tomando parte, suas realizações. Alguns dos resultados científicos ou práticos obtidos foram de vulto, outros apenas consideráveis. Mas, também houve fracassos e, neste longo período, nos foi possível reconhecer erros, defeitos, omissões e deficiências. Pudemos também acompanhar as vicissitudes por que passou o Instituto, as dificuldades que teve de vencer, a insuficiência das verbas que lhe eram concedidas, a discontinuidade da administração federal, as campanhas de imprensa e a incompreensão das autoridades que teve de enfrentar, as lutas internas que lhe minaram o prestígio perante a opinião pública e os meios médicos e científicos nacionais. Êsses aspectos negativos, entretanto, não constituem o tema do nosso trabalho e, deles, só relataremos aquilo que directamente afectou a marcha das pesquisas em realização no Instituto.

AS ORIGENS

No último quartel do século XIX, já se tinha firmado de modo definitivo e incontestável a doutrina da origem microbiana de muitas doenças transmissíveis do Homem, de animais e, sobretudo, das plantas. Não é aqui o lugar adequado para historiar a evolução das idéias e dos conhecimentos sobre a etiologia das doenças transmissíveis. Em trabalho anterior fizemos pormenorizadamente êsse histórico (10).

Recordaremos apenas que, antes de partir para se aperfeiçoar no estrangeiro, OSWALDO CRUZ fora no Brasil um clínico (antes dele, WIDAL, ROBERT KOCH e ADOLPHO LUTZ o foram também), exercendo a medicina ao lado de SALLES GUERRA e de SILVA ARAUJO (pai). Contudo, já então estava orientado para o laboratório e para os problemas de saúde pública: ajudante de preparador de bacteriologia na então Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, auxiliar de laboratório do Instituto de Higiene da Saúde Pública, chefe de laboratório da Policlínica Geral do Rio de Janeiro (cargo que durante 14 anos exerceu). Sua tese de doutoramento versava a *Veiculação microbiana pelas águas*. Na Europa, OSWALDO CRUZ formara sua personalidade científica no Instituto Pasteur de Paris, então dirigido por EMILE ROUX, que sucedera ao seu fundador, e no Laboratório Municipal daquela cidade, onde anos mais tarde nos foi dado o privilégio de também trabalhar sob a orientação de RAYMOND SABOURAUD, o eminente dermatologista e o verdadeiro fundador da micologia médica. Em Paris, OSWALDO CRUZ também se ocupou de medicina legal com OLLIER e VILBERT, e de urologia com GUYON, então o papa da especialidade.

Com essa ampla e variada experiência médica e científica, estava OSWALDO CRUZ preparado para a tarefa que o destino lhe reservava e de que tão bem se desempenhou, de fundador de uma grande escola de medicina experimental.

Como anteriormente assinalamos, em várias publicações estão pormenorizadamente registados os factos e as circunstâncias que conduziram à criação do Instituto Soroterápico Federal, com o objectivo imediato da preparação do soro e da vacina contra a peste, doença que foi introduzida no Brasil em 1899. Instalado na antiga fazenda de Manguinhos, foi chamado a organizá-lo e dirigí-lo um cirurgião ilustre, o Professor BARÃO DE PEDRO AFFONSO. Nas circunstâncias especiais, era pessoa indicada e que se recomendava pela grande experiência no fabrico da vacina anti-variólica, preparada no Instituto Vacínico, por ele dirigido, localizado na rua do Catete, e onde ainda tivemos oportunidade de pessoalmente conhecê-lo, no prédio em que hoje funciona a Faculdade de Direito da Universidade do Estado da Guanabara. Também as mencionadas publicações referem como o modesto laboratório primitivo de Manguinhos foi transformado por OSWALDO CRUZ no Instituto de Medicina

(10) OLYMPIO DA FONSECA, filho — *Parasitologia general*. Madrid, Morata, 1 vol., 143 pp., 65 figs.

Experimental de Manguinhos que, em 1908, por um decreto federal baixado por AFFONSO PENNA, então Presidente da República, passou a denominar-se Instituto Oswaldo Cruz.

Por suas origens, sua organização e a amplitude do programa que de início se impôs, a Escola de Manguinhos representou no Brasil um prolongamento do Instituto Pasteur de Paris e a implantação aqui da tradição pastoriana transplantada por OSWALDO CRUZ: dentro dos domínios da biologia (de que a patologia é um dos ramos) e das ciências que lhe dão o mais sólido apoio, particularmente a física e a química (por sua formação, PASTEUR era um químico e foi o fundador da estereoquímica), nada é estranho a seus objectivos.

Mas, no desenvolvimento da Escola de Manguinhos, não foi só francesa a influência exercida. O prestígio da ciência alemã foi lá desde logo perceptível, através da acção de ROCHA-LIMA, de formação germânica; de ARAGÃO, discípulo em Berlim de GOLDSCHMIDT, um dos pioneiros da moderna genética; de GODOY que estudara na Alemanha com OSTWALD, um dos criadores da físico-química; mais tarde de ADOLPHO LUTZ que, nascido no Rio de Janeiro, estudara e se diplomara em Berna, na Suíça alemã; e, ainda pela acção e colaboração dos eminentes professores MAX HARTMANN, STANISLAS VON PROWAZEK e G. GIEMSA, que fizeram demorados estágios em Manguinhos.

Todavia, não foi a vinda desses últimos e eminentes cientistas estrangeiros que proporcionou ao Brasil o desenvolvimento de uma escola estrictamente nacional de pesquisa científica. Isso bem salientou THALES MARTINS em seu trabalho sobre "A Biologia no Brasil", ao escrever:

"Quando o Instituto se impôs pelos trabalhos na Exposição de Berlim, em 1907, nenhum estrangeiro tinha ainda vindo para orientar pesquisas.

"A surpresa de um padrão tão alto na América do Sul, aguçou a curiosidade de homens notáveis como STANISLAS VON PROWAZEK, G. GIEMSA e MAX HARTMANN e levou-os a manifestar a OSWALDO CRUZ o desejo de conhecer os pesquisadores brasileiros,...

"Tome-se nota, entretanto, que quase todos os grandes trabalhos do período oswaldiano foram levados a termo antes desta primeira visita de sumidades européias". (l.c.: 233).

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

PROGRAMA DO CURSO DE 1913

1	Aparelhos e métodos gerais de investigação em microscopia e bacteriologia	GODOY
2	Micróbios em geral	FONTES
3	Técnica das culturas, colorações. Experimentação em animais	VASCONCELLOS
4	Técnica histológica aplicada à microbiologia	VIANNA
5	Análise de ar, solo e água	FONTES
6	Grupo do carbúnculo	GODOY
7	Cocos: estafilococos, estreptococos, pneumococos, meningococos e gonococos. Exame de pús, exsudatos e transudatos	FONTES
8	Difteria e pseudo-difteria. Exame de falsas membranas	FONTES
9	Tuberculose, lepra, ácido-resistentes. Exame de escarros	FONTES
10	Peste. Septicemias hemorrágicas. Exame bacteriológico de sangue	VASCONCELLOS
11	Mormo	VASCONCELLOS
12	Grupo coli-tifo. Exame bacteriológico da urina	FONTES
13	Cólera e vibriões. Exame de fezes	GODOY
14	Anaeróbios (Tétano. Carbúnculo sintomático)	GODOY
15	Imunidade em geral. Teorias da imunidade	GODOY
16	Reações sorológicas aplicáveis ao diagnóstico: Wassermann e suas modificações. Bordet-Gengou	VASCONCELLOS
17	Técnica soroterápica. Preparo dos diferentes soros	VASCONCELLOS
18	Dosagem dos soros	GODOY
19	Antisépticos. Determinação de seu valor	FONTES
20	Cogumelos patogênicos. Actinomicose. Tinhas	VASCONCELLOS
21	Esporotricose e blastomicose	VIANNA
22	Protozoários em geral	CHAGAS
23	Amebas	CHAGAS
24	Flagelados. Tripanosomidas. Leishmanias. Piroplasma	CHAGAS
25	Moléstia de Carlos Chagas	CHAGAS
26	Esporozoários em geral. Impaludismo	CHAGAS
27	Ciliados parasitos	CHAGAS
28	Espiroquetas	CHAGAS
29	Clamidozoários. Germes filtráveis. Varíola. Febre amarela	CHAGAS
30	Animais transmissores de moléstias. Dípteros. Hemípteros. Sifonápteros	NEIVA
31	Animais venenosos e peçonhentos	NEIVA
32	Animais parasitos do Homem e de outros animais	LUTZ

MANGUINHOS NO INTERIOR DO BRASIL

FILIAIS, POSTOS, EXPEDIÇÕES

Como é bem sabido, os problemas médicos e sanitários que o Brasil enfrenta estão longe de se restringirem às grandes cidades e ao litoral atlântico. Ao contrário, eles se encontram em maioria e sob seus mais graves aspectos no interior do País. Isso levou OSWALDO CRUZ e seus sucessores mais próximos a procurarem estabelecer contactos com essas paragens afastadas dos centros populosos e até mesmo com regiões longínquas, remotas, do nosso território ou de países vizinhos.

Para atingir tal objectivo, em vários Estados brasileiros se organizaram centros regionais de pesquisa, dois dos quais se desenvolveram em filiais, mais tarde se tornando organizações autônomas que passaram para o âmbito das administrações estaduais. Uma dessas filiais é hoje o Instituto Ezequiel Dias, de Belo Horizonte, dirigido primeiro pelo técnico de quem tomou o nome e depois, durante muitos anos, por OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES. A outra filial constitui o Instituto Oswaldo Cruz, em São Luís, no Maranhão, organizado e dirigido durante 16 anos por CÁSSIO MIRANDA.

Outras estações, de âmbito mais restrito, eram dotadas de um número pequeno de investigadores, às vezes mesmo um único sendo aí destacado em rodízio ou em carácter permanente. Estas constituiam simples postos, geralmente destinados ao estudo de problemas locais. Desse número foram os postos de Lassance e de Bambuí, durante muitos anos destinados ao estudo da doença de Chagas. Pelo primeiro destes, passaram, lá se demorando de alguns meses até vários anos, quase todos os membros mais antigos do Instituto, o próprio CARLOS CHAGAS (pai), que lá tinha descoberto a tripanossomose americana, EURICO VILLELA, MAGARINOS TORRES, LEOCÁDIO CHAVES, BELISÁRIO PENNA, ASTROGILDO MACHADO, HENRIQUE ARAGÃO, CESAR GUERREIRO, ARÊA-LEÃO, EMMANUEL DIAS, OCTAVIO DE MAGALHÃES, OLIVEIRA-CASTRO, BOTAFOGO-GONÇALVES, CESAR PINTO e muitos outros, entre os quais quem escreve estas linhas. Lá também foi recebida a visita de muitas personalidades ilustres da medicina nacional (MIGUEL COUTO, MIGUEL PEREIRA, JULIANO MOREIRA, ANTONIO AUSTREGÉSILO, FERNANDES FIGUEIRA, FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, ALFREDO NASCIMENTO) e estrangeiras, dentre elas se destacando EMILE BRUMPT e KOTARO KOHDA.

O posto de Bambuí, organizado com a cooperação do governo do Estado de Minas Gerais, foi por vários anos dirigido por EMMANUEL DIAS, cujo filho, JOÃO CARLOS PINTO DIAS, vem continuando o trabalho de seu pai. As principais atribuições do pessoal desse posto consistem em estudar métodos de eliminação dos triatomíneos ou "barbeiros", transmissores da doença de Chagas, e em seleccionar pacientes dessa enfermidade que, ora em Bambuí, ora em Manguinhos, são objecto de estudos clínicos, parasitológicos e imunológicos mais particularizados.

Sucessivamente em vários pontos do Estado do Rio de Janeiro, mas principalmente em Araruama, FELIPE NERY-GUIMARÃES dedicou-se a pesquisas sobre a bouba ou pian, *framboesia tropica* dos tropicalistas europeus, que estudou clinicamente e para a qual foi o primeiro a instituir o tratamento pela penicilina, o que lhe permitiu praticamente extinguir a incidência da doença no Brasil.

Num programa de colaboração do Instituto Oswaldo Cruz com o Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela, do Estado de São Paulo, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO instalou a 20 quilômetros de Perus, no fim da linha da São Paulo Railway, uma Estação de Biologia Silvestre destinada ao estudo dos artrópodos eventuais transmissores e dos vertebrados possíveis hospedadores do vírus dessa doença. Nessa Estação, em que também trabalhou outro discípulo da Escola de Manguinhos, MAURICIO SANCHEZ BASSÈRES, se desenvolveu toda uma técnica muito especial de exploração biológica das florestas, para a qual muito contribuiram os trabalhos realizados no Brasil pela Fundação Rockefeller. O emprego de armadilhas destinadas à captura de mosquitos, de aves e de mamais, ao nível do solo e em diferentes alturas no tronco e na copa das árvores, exige a habilidade e a especialização de capturadores e de pesquisadores que estabelecem os métodos a empregar. A colaboração de zoólogos especializados, entomólogos, ornitólogos e mamalogistas é também indispensável para a classificação dos espécimes capturados. Também, muitas vezes, para o estudo da marcha da infecção na fauna estudada, principalmente na de Primatas, a marcação dos animais examinados e sua libertação para subsequente recaptura, representam uma das técnicas graças às quais é possível o estudo da situação da endemia amarílica, ou de outras endemias, na área explorada. Por essa técnica, é possível recapturar uma dezena de vezes ou mais, o mesmo

macaco e nele acompanhar pelas reacções de imunidade (poder de protecção do soro respectivo na infecção experimental de outros animais), a permanência de vectores invertebrados infectados e outros aspectos da endemia na região estudada.

Organizado com objectivos muito diversos foi o posto estabelecido em Lagoa Santa, Estado de Minas Gerais. Quando estávamos na direcção do Instituto Oswaldo Cruz, em 1950, pareceu-nos que, dada a importância que a ecologia vinha assumindo, seria conveniente reestudar, cem anos depois, a própria região em que teve origem aquele ramo da biologia, através da obra famosa de WARMING intitulada apenas *Lagoa Santa*. E, assim, a directoria do Instituto resolveu naquele ano estabelecer um posto de estudos ecológicos em Lagoa Santa. Para a difícil tarefa de reestudar por métodos modernos aquilo que WARMING tinha observado e relatado havia um século, era preciso encontrar um homem altamente qualificado e grande conhecedor da matéria a pesquisar. Manguinhos dispunha desse homem, na pessoa de GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO, um dos mais completos biologistas que o Brasil tem produzido. Durante mais de dez anos, permaneceu OLIVEIRA-CASTRO em Lagoa Santa, recolhendo um acervo precioso de dados e de documentos que permitem comparar as condições em que hoje se encontra a região, decorrido um século dos estudos originais de WARMING.

Vários trabalhos publicados por OLIVEIRA-CASTRO versaram as pesquisas por ele realizadas, no decênio de 1950 a 1960, em Lagoa Santa. Infelizmente, o estado de saúde de seu autor e a deficiência extrema de recursos que lhe têm sido proporcionados não têm permitido que seja devidamente aproveitado o valioso patrimônio representado pelo material coleccionado e pelas observações recolhidas *in loco* por aquele ilustre pesquisador.

Embora Angra dos Reis, no Estado do Rio de Janeiro, nunca tenha sido sede dum posto do Instituto, LAURO TRAVASSOS, só ou acompanhado de outros técnicos do Instituto ou de auxiliares, lá passava semanas ou meses, colhendo material helmintológico, entomológico e, também, de protozoologia.

Em Pedra Azul (antiga Fortaleza), no norte de Minas Gerais, e no Itatiaia, Estado do Rio de Janeiro, manteve o Instituto durante algum tempo dois postos, o primeiro destinado principalmente ao estudo da esquistossomose, o segundo constituindo uma estação biológica de média altitude.

Em Pelotas, no Estado do Rio Grande do Sul, OCTAVIO DE MAGALHÃES instalou um laboratório em que foram estudados problemas importantes para a pecuária nacional.

Em 1950, a direcção do Instituto, então entregue a quem escreve estas linhas, mantendo a tradição pastoriana de que Manguinhos é continuador no Brasil, fez vir do *Pays de Pasteur* um especialista em fermentações, o engenheiro-enólogo PIERRE-HENRI RAFFOUR, de Dijon, para estudar *in loco* os problemas da produção vinícola do Rio Grande do Sul. Contratado por dois anos, aquele técnico foi trabalhar na região de Caxias, Bento Gonçalves e Flores da Cunha, lá tendo prestado valiosos serviços à indústria vinícola rio-grandense e lá se tendo radicado após a terminação do contrato.

EXPEDIÇÕES E VIAGENS DE EXPLORAÇÃO CIENTÍFICA

Na conferência que, em 5 de Agosto de 1972, pronunciamos no Teatro Municipal do Rio de Janeiro, dissemos:

"Para atingir seus objectivos [do Instituto Oswaldo Cruz], foi muitas vezes necessário que não nos deixássemos ficar enclausurados entre as paredes dos nossos laboratórios, mas que, em expedições enviadas ou estimuladas por OSWALDO CRUZ, CARLOS CHAGAS e outros directores de Manguinhos que não raro pessoalmente nelas tomaram parte, os nossos pesquisadores varassem os mais remotos sertões do Brasil, ocasionalmente estendendo suas pesquisas aos países vizinhos, neles penetrando em missão de solidariedade e de paz, uma vez que nem a ciência nem a doença reconhecem limites políticos.

"As montanhas de Minas Gerais como as planícies do Sul, o Grande Pantanal de Mato Grosso, a vasta rede fluvial da Amazônia como as terras semi-áridas do Nordeste, as regiões limítrofes do Brasil com a Guiana, do mesmo modo que as nossas lindes fronteiriças com a Bolívia e o Paraguai, foram atingidas ou atravessadas, às vezes à custa de grandes esforços e até com sacrifício de vidas, pelos técnicos de Manguinhos, por seus discípulos e por seus valorosos e anônimos auxiliares".

Na vastidão do território nacional, é óbvio que não bastavam postos ou estações isoladas para o reconhecimento e a avaliação dos nossos problemas biológicos e médico-sanitários. Para complementar os dados que essas organizações locais procuram

reunir, foi forçoso muitas vezes enviar a várias regiões do País expedições mais ou menos numerosas e demoradas.

Evidentemente, não foram viagens de descoberta, essas realizadas pelos técnicos de Manguinhos no primeiro quartel do século XX. Aquelas já tinham sido realizadas pelos primeiros "conquistadores", antes dos bandeirantes vararem os sertões do Oeste, no decorrer dos séculos XVII e XVIII. Também é óbvio não terem elas tido o vulto da epopéia sertanista que, contemporaneamente, era levada a efeito por CANDIDO MARIANO DA SILVA RONDON e seus valorosos companheiros da denominada Missão Rondon.

Entretanto, muitos dos trechos percorridos pelos técnicos de Manguinhos no Brasil Central, no Oeste brasileiro e no Oriente da Bolívia, eram geralmente muito pouco conhecidos e cientificamente nunca tinham sido explorados. Alguns, de memória de homem, nunca tinham sido atravessados por gente da nossa civilização. Disso deu testemunho, por exemplo, o ilustre engenheiro LUIZ ALBERTO WHATELY que dirigiu a construção da Estrada de Ferro Brasil-Bolívia, em carta a nós dirigida e de que aqui publicamos um *fac-simile*.

Datam dos primeiros tempos de Manguinhos as viagens de estudos e de exploração científica empreendidas por seus pesquisadores. As primeiras dessas viagens, com estadas mais ou menos prolongadas em diversos pontos do território brasileiro, tiveram por objectivo atender às solicitações de entidades públicas e particulares, as quais se se viam a braços com problemas sanitários que lhes dificultavam ou impediam a acção. Era então geralmente a malária que criava tais dificuldades, mas, às vezes a ela se juntavam outras endemias e era preciso enfrentar condições globais. A Inspectoria de Obras contra as Secas, o Serviço de Defesa da Borracha, as Estradas de Ferro Central do Brasil, Noroeste do Brasil e Madeira-Mamoré, a Companhia Docas de Santos, os serviços de abastecimento d'água da cidade do Rio de Janeiro, o Ministério das Relações Exteriores através de seus empreendimentos de fronteira, foram das organizações que se valeram dos conhecimentos e da experiência do corpo técnico do Instituto Oswaldo Cruz.

Assim, por volta de 1906, em Itatinga, Estado de São Paulo, as obras de construção de uma usina hidro-eléctrica, empreendidas pela Companhia Docas de Santos, tinham sido suspensas devido à epidemia de impaludismo que grassava entre os trabalhadores. Para lá seguiu CARLOS CHAGAS, realizando a primeira campanha anti-malárica a se empreender no Brasil. Pouco depois, juntamente com ARTHUR NEIVA e JOSÉ GOMES DE FARIA, era CHAGAS encarregado da mesma tarefa, quando o ilustre Engenheiro SAMPAIO CORREIA dirigia os serviços de captação do rio Xerém, com que se ampliava o abastecimento d'água da cidade do Rio de Janeiro. Idêntica incumbência levou CHAGAS a Minas Gerais, quando dos trabalhos de prolongamento das linhas da Estrada de Ferro Central do Brasil até Pirapora. Foi no decurso dessa última missão, quando combatia o impaludismo, que CHAGAS teve sua atenção chamada para aspectos peculiares da nosologia regional e acabou por descobrir a doença que hoje tem o seu nome, a tripanossomose americana.

Na mesma época, era ARTHUR NEIVA encarregado de outra importante campanha contra a malária que estava prejudicando a continuação dos trabalhos de construção da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, no Estado de São Paulo, campanha que, como as precedentes, foi coroada de completo êxito.

Em 1910, acompanhado por BELISÁRIO PENNA, segue OSWALDO CRUZ para a Amazônia, a convite da empresa construtora da Estrada de Ferro Madeira-Mamoré, para estudar as condições sanitárias que, havia decênios, impediam levar-se a termo o empreendimento a que, já agora, nos obrigava o Tratado de Petrópolis com a Bolívia. O relatório de OSWALDO CRUZ, que se tornou peça bibliográfica se não rara pelo menos de difícil aquisição, serviu de base para os trabalhos de saneamento da região que passou a ser uma das mais salubres do mundo.

Atendendo a convite dos serviços de Defesa da Borracha, CARLOS CHAGAS, PACHECO-LEÃO e JOÃO PEDROSO, por designação de OSWALDO CRUZ, sobem o Amazonas e o Solimões, e vão até o então Território do Acre, estudando as condições médico-sanitárias locais e recolhendo grande cópia de observações.

No Nordeste do Brasil, outra viagem proveitosa foi realizada por JOSÉ GOMES DE FARIA e JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE que atravessaram todo o Estado do Ceará e o norte do Piauí (o sul deste último seria percorrido por ARTHUR NEIVA e BELISÁRIO PENNA).

Em 1912, ARTHUR NEIVA e BELISÁRIO PENNA partiram a cavalo de Joazeiro, ponto terminal da Estrada de Ferro da Bahia ao São Francisco e, pela cidade fronteira de Petrolina, em Pernambuco, atravessaram o sul do Piauí, tomaram o rumo de sudoeste até o norte de Goiás que atravessaram de norte a sul, do Porto Nacional no rio Tocantins até a cidade de Goiás, então capital do Estado. Foi uma travessia de 500 léguas, com uma tropa de 35 animais, realizado o trajecto em cinco meses. Foi também essa uma das mais extensas e prolongadas expedições até hoje realizadas pelos técnicos

do Instituto Oswaldo Cruz. O acervo de observações realizadas foi considerável e consta do relatório de NEIVA e PENNA nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (t. 8, f. III, 1916, publicado em 1918).

Pela mesma época, ADOLPHO LUTZ e ASTROGILDO MACHADO, em uma viagem de quase três meses entre Pirapora e Joazeiro, desceram o rio São Francisco e visitaram vários de seus afluentes.

Alguns anos mais tarde, ADOLPHO LUTZ e OSWINO PENNA percorreram vários Estados do Nordeste do Brasil, estudando problemas nosológicos regionais, em particular os relativos à esquistossomose. Esses estudos constituiram parte das pesquisas de LUTZ que esclareceram vários pontos obscuros ou não conhecidos da evolução do *Schistosoma Mansoni*, único agente produtor da esquistossomose no Brasil.

Em 1918, saiu de Três Lagoas, em Mato Grosso, próximo ao limite desse Estado com o de São Paulo, uma missão do Instituto Oswaldo Cruz, composta de ADOLPHO LUTZ, HERACLIDES CESAR DE SOUZA-ARAUJO e o autor do presente trabalho. Essa missão desceu o Alto Paraná, o que então havia anos não se fazia, a região sendo toda desabitada e mal conhecida a poucas dezenas de metros das margens do grande rio. Nessa época, em território brasileiro, nos Estados de São Paulo, Paraná e Mato Grosso, só uma estrada atingia as margens do rio Paraná. Era a linha da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em Jupiá, quase na confluência dos formadores do Paraná, o rio Grande e o rio Paranaíba. Além dessa, só havia uma simples trilha de passagem do gado que vinha a pé de Mato Grosso para São Paulo e que atravessava o rio a nado, penetrando no Estado de São Paulo pela localidade chamada Porto Tibiriçá. Um pequeno navio semelhante aos "gaiolas" da Amazônia ligava esses dois pontos de travessia distantes um do outro cerca de 150 quilômetros. Daí para jusante, nenhuma navegação então se fazia.

Os técnicos do Instituto desceram o alto Paraná até as cataratas do Guaira ou das Sete Quedas, no trajecto subindo e descendo vários rios, o Verde, o Pardo, o Ivinheima, o Paranapanema, o Ivaí, o Pequeri e outros, além do rio Iguassu, até suas famosas quedas. Daí passaram a território paraguaio, atravessando este último, atingindo o rio Paraguai e de novo o Paraná, visitando os territórios argentinos de Missiones e do Chaco e as províncias também argentinas de Corrientes, Santa Fé e Entre Rios, voltando ao Brasil, por Buenos Aires e Montevideo, após três meses de viagem.

Em 1922, durante cerca de 40 dias, LAURO TRAVASSOS, CESAR PINTO e JULIO MUNIZ fizeram uma excursão ao norte do Pantanal de Mato Grosso, nas margens dos rios São Lourenço e Cuiabá, realizando em três fazendas da região pesquisas parasitológicas de que resultou a descrição de várias espécies novas de protozoários e de helmintos de aves e de mamais, bem como de insectos relacionados com a patologia humana e animal.

Em 1924, para cumprir uma das cláusulas do Tratado de Petrópolis, firmado com a Bolívia, resolveu o Governo brasileiro dar andamento ao projecto de construção de uma estrada de ferro que, prolongando as linhas da E. F. Noroeste do Brasil, se estendesse até a cidade de Santa Cruz de la Sierra, capital da província boliviana de Santa Cruz.

Tratava-se de um empreendimento difícil, qual o de atravessar, em terreno quase desconhecido, todo o Chaco boliviano, prolongamento que é este do Grande Pantanal matogrossense. Para os estudos preliminares foi organizada uma comissão, cuja chefia foi entregue pelo Ministério das Relações Exteriores do Brasil ao Engenheiro ESTANISLAU LUÍS BOUSQUET, professor catedrático da então Escola Politécnica do Rio de Janeiro, hoje Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Esse profissional, antevendo as dificuldades de ordem médico-sanitária para os membros da Comissão, resolveu que uma das quatro secções fosse a Secção Médica, cuja organização foi entregue ao Instituto Oswaldo Cruz. CARLOS CHAGAS (pai), então director do Instituto, designou para chefiá-la a quem escreve estas linhas. A referida secção ficou integrada por nós e outro técnico de Manguinhos, — JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO, e dois auxiliares, DALMIRO DA ROCHA MURCE e MÁRIO DA SILVA VENTEL. Dessa missão veio a fazer parte logo depois outro discípulo de Manguinhos, o Dr. FLÁVIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA, mais tarde pesquisador e director do Instituto Butantã e professor catedrático da Escola Paulista de Medicina.

A secção médica teve seu centro de operações num acampamento onde permanecemos durante oito meses, assentado em Porto Esperança, na barranca do rio Paraguai e no que era a então ponta dos trilhos da E. F. Noroeste do Brasil. Daí, irradiou ela sua actividade em direcção ao sul até o Forte de Coimbra e a Bahia Negra, no ponto de encontro dos territórios do Paraguai, da Bolívia e do Brasil, estendendo seus estudos ao longo do rio, pela fronteira brasileiro-paraguaia, em Fuerte Olimpo, Barranco Branco, Porto Murtinho, e, já em território do Paraguai, Puerto Sastre, Puerto Casado e Puerto Pinasco. Para oeste e para o norte, durante quase dois anos, os técnicos de Manguinhos percorreram grande parte do Pantanal de Mato Grosso, subindo ainda os rios Paraguai, São

Lourenço e Cuiabá, até a capital de Mato Grosso e chegando à serra da Chapada. Incumbimo-nos pessoalmente desta segunda parte da tarefa, bem como da travessia na direcção leste-oeste do Chaco boliviano. Esta última travessia, desde Puerto Suarez na fronteira brasileira perto de Corumbá em direcção a Santa Cruz de la Sierra, fizemo-la em companhia do auxiliar DALMIRO MURCE, de dois índios bolivianos e, em parte do trajecto, de um alemão, GUILHERME EHRET. Atingimos a localidade de San José de Chiquitos, outrora sede de uma das grandes missões jesuíticas e hoje centro administrativo do Território boliviano do Oriente. Foi uma cavalgada de 850 quilômetros, realizada em dois meses através de terrenos ora alagados ora inteiramente desprovidos de água.

O principal resultado científico dessa viagem foi a descoberta em Santiago de Chiquitos de um foco de bartonelose neotrópica, doença até aquela época só identificada no vale de Oroya, próximo à cidade de Lima, no Peru, e mais conhecida pelos nomes de febre de Oroya ou verruga peruana. Também permitiu ela colher os primeiros dados sobre a fauna de flebotomíneos e de culicídeos da região, determinados respectivamente por ANGELO DA COSTA-LIMA e por CESAR PINTO, bem como estudar os mixosporídios de peixes do rio Paraguai, os quais foram descritos por JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO. Além disso, recolhemos uma colecção de armas e utensílios dos índios Otuques, primeiro material etnográfico conseguido desse grupo de indígenas, para o Museu Nacional, então dirigido por EDGARD ROQUETTE-PINTO.

Num programa que se estendeu por vários anos, diversos pesquisadores de Manguinhos, entre os quais LAURO TRAVASSOS e TEIXEIRA DE FREITAS, periodicamente visitaram a região servida pela Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, nos Estados de São Paulo e Mato Grosso, principalmente em Ilha Seca, no Estado de São Paulo, entre Araçatuba e Jupiá e em Salobra, no Estado de Mato Grosso. Nessas excursões, em que se faziam estudos faunísticos, florísticos, fitogeográficos e médicos, além dos técnicos do Instituto Oswaldo Cruz, tomavam parte botânicos, zoólogos e outros especialistas, quase todos pertencentes aos quadros do Museu Nacional, do Club Zoológico do Brasil, do Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, dos Institutos Biológico e Tecnológico desse mesmo Estado, do Instituto de Higiene da Universidade de São Paulo, além de a algumas delas se terem incorporado o herpetologista americano JOSEPH BAILEY, da Universidade de Michigan e ALFONSO M. OLALLA, explorador equatoriano da Amazônia.

Numerosas outras excursões de menor vulto foram realizadas pelos pesquisadores de Manguinhos, em quase todos os Estados do Brasil, delas se recolhendo informações, dados, material botânico, zoológico e patológico, quase todo ele incorporado às colecções do Instituto.

Muitas das viagens e expedições dos técnicos do Instituto Oswaldo Cruz eram realizadas em condições realmente difíceis e não raro penosas, o que está registado nos relatórios apresentados e nos comentários de alguns dos veteranos de Manguinhos, insuspeitos porque foram dos poucos que nelas não tomaram parte.

Escreveu EZEQUIEL DIAS (*):

"Tais jornadas esfalfantes desses ilustres companheiros que ao bordejar incerto dos "gaiolas" e "montarias", ao chouto de azêmolas esqueléticas, sob o dardejar do sol estival, ou a negrura da noite, fizeram obra de sábios e sertanistas, convertidos em sociólogos praticantes, levando a bandeira de Manguinhos até os mais longínquos e inóspitos rincões da nossa terra".

Outra apreciação dos objectivos e do significado dessas expedições do Instituto Oswaldo Cruz foi publicada por HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, em seu artigo intitulado "Carlos Chagas, diretor de Manguinhos" (**). Diz ARAGÃO:

"Fiel às tradições do Instituto, CHAGAS deu sempre a maior atenção ao estudo das nossas endemias rurais, não só mediante investigações procedidas no Hospital de Manguinhos e no centro de pesquisas de Moléstia de Chagas em Lassance, como promovendo numerosas excursões no interior do país. Assim, enviou LUTZ, SOUZA-ARAUJO e OLYMPIO DA FONSECA para uma longa excursão à zona do rio Paraná, até então não explorado, aproveitando-se os membros dessa missão para estenderem suas actividades até o Paraguai e a Argentina.

"Outra grande viagem de estudos foi realizada por OLYMPIO DA FONSECA e JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO ao Estado de Mato Grosso e pelas zonas bastante inóspitas do Chaco Boliviano, por ocasião da exploração inicial da Estrada de Ferro Brasil-Bolívia, e LUTZ e OSWINO PENNA fazem ainda uma exploração nos Estados Nordestinos de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte.

"Além destas expedições científicas, que foram as principais, várias outras se efectuaram nos

(*) EZEQUIEL DIAS — *O Instituto Oswaldo Cruz. Resumo histórico (1899-1918)*. Rio de Janeiro, Manguinhos, 1918, pág. 57.

(**) *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, t. 51, págs. 1-10 (1953).

Estados de Minas, Bahia, São Paulo, Mato Grosso, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, etc..

"De todas estas, bem como das realizadas ao tempo de OSWALDO, advieram dados muito preciosos sobre a nosologia regional brasileira, além dos fartos materiais parasitológico, entomológico e outros, que vieram enriquecer as colecções do Instituto e de cujo estudo resultaram numerosos trabalhos".

A BACTERIOLOGIA NO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Foi a bacteriologia o *primum movens* da criação do Instituto Oswaldo Cruz e por ela se iniciaram as realizações práticas e científicas da Escola de Manguinhos.

Nos dois primeiros decênios de sua actividade, foi a bacteriologia um campo em que todos os técnicos do Instituto tiveram que se exercitar.

A bacteriologia de Manguinhos tinha suas raízes no que de melhor havia nessa matéria em todo o mundo, no Instituto Pasteur de Paris, onde se formara OSWALDO CRUZ e no Instituto de Higiene de Berlim, onde ROCHA-LIMA teve, como primeiro mestre de bacteriologia, o Professor MARTIN FICKER, então assistente chefe e que viria afinal a fixar-se em São Paulo, onde viveu trinta e cinco anos, lá falecendo.

Vindo dessas origens, contou o Instituto Oswaldo Cruz com bacteriologistas notáveis pelo apuro de sua formação e senhores de impecável técnica. Desse número foram HENRIQUE DE FIGUEIREDO-VASCONCELLOS, JOSÉ GOMES DE FARIA e JOSÉ DA COSTA-CRUZ, este discípulo de BORDET, em Bruxelas.

Naquela época, quando a quimioterapia, com FOURNEAU na França e EHRLICH na Alemanha, dava seus primeiros passos e ainda não se tinham descoberto nem as sulfas, que vieram com DOGMAGK na Alemanha, com o casal TRÉFOUËL na França, e com NITTI e BOVET na Itália, nem os antibióticos oriundos da descoberta da penicilina por FLEMING e de sua utilização terapêutica por FLOREY e CHAIN, era aos soros e vacinas que o médico actualizado recorria para o tratamento de muitas das doenças transmissíveis. Assim sendo, as numerosas tarefas de rotina do preparo de soros e vacinas tinham que ser distribuídas entre os técnicos do Instituto, embora fossem outras as especialidades a que eles se dedicassem na pesquisa científica original, dessas tarefas rotineiras só com o tempo se indo libertando uns poucos dos mais graduados e mais antigos pesquisadores. O mesmo acontecia em relação a certos trabalhos de diagnóstico e, particularmente, de diagnóstico sorológico, naquela época ainda pouco divulgados nos meios médicos brasileiros: era o caso do diagnóstico sorológico da sífilis que, então, só se fazia pela reacção de Wassermann. Se acontecia que um helmintologista fosse durante muitos anos encarregado do preparo do soro antitetânico, responsável pelas culturas do respectivo clostrídio e pela obtenção de uma toxina tetânica activa e eficaz, o soro antidiftérico nesse mesmo período podia estar sendo preparado por um patólogo, um químico ou um protozoologista, enquanto um outro patólogo era encarregado de realizar para o hospital da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro, várias dezenas de reacções de Wassermann por semana. E o mesmo ocorria com outros soros e vacinas. Isso acontecia sem inconvenientes e mesmo com proveito, porque além de forçar o pesquisador a ver problemas alheios à especialidade, ampliando-lhe a cultura científica, uma boa técnica bacteriológica era considerada no Instituto um requisito indispensável e uma excelente formação para a pesquisa original em muitos outros domínios da patologia.

Apesar dessa excelente escola, a pesquisa bacteriológica original não foi o terreno em que Manguinhos mais se assinalou. Isso não quer dizer que de lá não tenham saído algumas realizações de vulto e de grande alcance prático.

O COMBATE À PESTE

O primeiro problema que se teve de resolver em Manguinhos foi o de preparo do soro antipestoso. A peste grassava sobretudo na Índia e no Extremo-Oriente, mas ameaçava e surgia em várias outras partes do mundo. Vinda do Rio da Prata, atingia a cidade de Santos em 1899 e o Rio de Janeiro em 1900. O soro específico era o único agente terapêutico eficaz contra o terrível mal, mas poucos eram os laboratórios que o produziam. Diante da grande procura, o produto escasseava e era de difícil obtenção, o que forçou o governo brasileiro a fundar o Instituto Soroterápico Federal, logo chamado Instituto de Manguinhos.

Como FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS teve ocasião de assinalar (*), ao ter sido introduzida a peste no Brasil, o que se sabia da preparação do soro antipestoso era apenas o que BORREL, CALMETTE e YERSIN tinham resumidamente descrito em seus trabalhos, nos quais os pormenores de ordem técnica não eram descritos nem especificados. Diziam os autores apenas que na imunização dos cavalos fornecedores do soro tinham abandonado a prática das injecções subcutâneas de que resultavam abcessos e acabado por adoptar a técnica das injecções intra-venosas, sempre empregando culturas do bacilo descoberto por YERSIN e KITASATO, mortas pelo calor. Nesses trabalhos, os autores não faziam referência às doses utilizadas na imunização dos animais. OSWALDO CRUZ teve de padronizar e, logo depois, de modificar em vários pontos as técnicas até então preconizadas, iniciando a imunização com bacilos pouco virulentos mortos pelo calor a temperatura de 65° a 68°C., durante uma hora, passando depois à inoculação de bacilos de fraca virulência e, em seguida, à de bacilos vivos muito virulentos.

Mais tarde, FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, já com uma grande experiência no assunto, aboliu o emprego de bacilos mortos e reduziu à metade o número de inoculações com bacilos vivos de fraca virulência. Essa nova técnica abreviou consideravelmente o prazo necessário para a imunização dos cavalos, o qual antes se estendia a cerca de ano e meio, quando tudo corria sem incidentes. A imunização passou a se fazer em prazo muito mais curto, os animais ficando muito mais rapidamente aptos a fornecerem soro activo.

Como os bacilos vivos permanecem na circulação durante vinte e quatro ou mais horas, foi estabelecido o isolamento dos cavalos inoculados por um período mínimo de quarenta e oito horas, de modo a impedir que, através de artrópodos hematófagos, o bacilo da peste pudesse ser disseminado no meio exterior.

Em relação à preparação da vacina contra a peste, para que se possa compreender o alcance das modificações introduzidas por OSWALDO CRUZ, convém recordar como se evolveram as técnicas de preparo desse agente profiláctico e quais os inconvenientes que ele apresentava antes de aperfeiçoado em Manguinhos. Depois das primeiras tentativas de HANKIN, foram YERSIN e seu colaborador CARRÉ, veterinário e bacteriologista francês que trabalhou durante algum tempo em Manguinhos logo depois da fundação do Instituto Soroterápico Federal, que prepararam a primeira vacina antipestosa, utilizando bacilos vivos de virulência atenuada. Mas, os próprios autores dessa vacina alertavam: "Il est toujours grave d'inoculer à l'homme un bacille, qui, quelque attenué qu'il soit pourrait, peut-être, dans certains cas, causer des accidents..." Esse risco conduziu o famoso médico russo W.M. HAFFKINE a adoptar no caso da peste a mesma técnica por ele próprio utilizada no preparo da vacina contra o cólera-morbo, a qual, por sua vez, era uma modificação do processo nesta última doença utilizado por FERRÁN. A vacina HAFFKINE, preparada com culturas mortas do bacilo da peste, foi largamente empregada na Índia e em outros países. Mas, seus inconvenientes (impossibilidade de uma dosagem rigorosa, presença de muitas substâncias estranhas oriundas dos meios de cultura, preparo muito demorado), fizeram com que várias modificações técnicas fossem propostas: pela Comissão Alemã enviada à Índia para estudar a peste e composta de alguns dos mais famosos bacteriologistas alemães daquela época (ROBERT KOCH, GAFFKY, PFEIFFER, STICKER e DIEUDONNÉ), por LUSTIG e GALEOTTI, por TERNI e BRANDI, e por CALMETTE.

Em todas essas novas técnicas se evidenciavam defeitos que era necessário sanar: meios de preparo susceptíveis de alterar profundamente o quimismo do gérmen e de seus produtos tóxicos, quase impossibilidade de se fazer uma dosagem mais ou menos rigorosa, o custo elevado para uma produção em massa. A vacina de BESREDKA, baseada no princípio da soro-vacinação já antes preconizado na França por CALMETTE, na Itália por SALIMBENI, em Portugal por CÂMARA PESTANA e MORAES SARMENTO, e na Alemanha por PFEIFFER, parecia a OSWALDO CRUZ digna de estudo mais aprofundado, mas, na época, ainda era mal conhecida e pouco experimentada. Mas, de todas essas modificações a que pareceu a OSWALDO CRUZ de mais prática utilização foi a da Comissão Alemã que tinha as vantagens de ser constituída pelos corpos bacterianos com exclusão de outros componentes irritantes e sem acção vacinante (diríamos hoje sem acção antigênica), de se poder nela introduzir um método rigoroso de dosagem, e de ser de rápido e seguro preparo.

Na técnica da Comissão Alemã, OSWALDO CRUZ introduziu como principais alterações: emprego de culturas em que a alta virulência era mantida por passagens sucessivas em animal sensível, utilizando-se vários artifícios de técnica de inoculação; preparo das emulsões em solução fisiológica de cloreto de sódio e não em caldo simples, e principalmente a rigorosa dosagem pela pesada em balança de alta precisão. Nos trabalhos publicados

(*) FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS — 1909 — "O sôro antipestoso". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, t.1: 14-27.

por OSWALDO CRUZ em 1901 (*) e 1902 (**), são minuciosamente descritas todas as técnicas adoptadas, inclusive os cálculos a serem feitos para a padronização do produto.

Para pôr em prática essas técnicas de preparo do soro antipestoso e da vacina da peste, foram construídas instalações especiais. As modelares cavalariças dificilmente poderão ter similares em qualquer parte. Dispõem elas de aparelhos de contenção de animais, de sala de pesada em que a perda de peso e a temperatura dos cavalos inoculados era observada diariamente, de mesa de necrópsia, de depósito de forragem a prova de ratos, enfim de uma sala de sangria de tecto tão elevado que mais parece inspirada em qualquer majestosa capela de catedral.

O Pavilhão de Peste, de elegante construção, compreende dois laboratórios. Um deles era destinado à manutenção de culturas (uma das quais avirulenta) e a trabalhos gerais de bacteriologia sobre peste. O outro laboratório destinava-se especialmente à observação permanente das condições da enzootia pestosa entre os ratos da cidade do Rio de Janeiro e seus arredores. Nesse laboratório, se recebiam diariamente de uma a várias centenas de murídeos capturados pelos serviços especializados de saúde pública. Esses animais eram grupados segundo os bairros de que provinham, retiravam-se-lhes os baços assim grupados e, de cada grupo, os baços triturados eram inoculados em meia dúzia de camundongos que, alguns dias depois, eram sacrificados e submetidos a exame bacteriológico. Por esse modo, se mantinham o Instituto e os serviços de saúde pública constantemente a par da situação no que se referia a ocorrência da peste murina na cidade do Rio de Janeiro, o que permitia a imediata execução das medidas preventivas em caso de alarme. Entre os dois laboratórios do Pavilhão de Peste, estavam a sala de inoculação e as baias de isolamento dos cavalos inoculados.

Toda essa instalação era dotada de aparelhamento especial que permitia a protecção pessoal dos operadores, bem como as precauções destinadas a evitar que os bacilos manipulados pudessem chegar ao exterior. Isso, contudo, não impediu que dois acidentes graves de inoculação tivessem ocorrido no Instituto, um com HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e outro com ARTHUR MOSES, ambos felizmente não fatais graças ao soro antipestoso lá preparado.

Hoje, com os novos recursos terapêuticos, a peste deixou de ser o fantasma que durante tantos séculos apavorou os povos. Mas, naquela época esse apuro e esses aperfeiçoamentos na técnica de preparo da vacina e do soro eram de importância vital no combate à doença. Graças a esses requintes de técnica, o soro antipestoso de Manguinhos adquiriu uma reputação mundial de eficiência, sua acção preventiva segundo o professor KOLLE, de Berlim, excedendo a de quaisquer outros soros até então empregados.

Ainda no que se refere à peste, uma outra contribuição de Manguinhos é representada pela introdução, devida a HENRIQUE DA ROCHA-LIMA e a HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, de uma técnica padronizada que permite o diagnóstico bacteriológico da doença em 16 horas. Esse diagnóstico rápido era de grande importância sob o ponto de vista clínico, uma vez que permitia a rápida intervenção com o tratamento específico.

A VACINA DA MANQUEIRA

Outra realização importante de Manguinhos, no terreno da bacteriologia, foi o da vacinação contra o carbúnculo sintomático ou *peste da manqueira*, que devastava os nossos rebanhos bovinos. Estudos sobre essa doença cedo se realizaram no Instituto sob as vistas de OSWALDO CRUZ, por HENRIQUE DA ROCHA-LIMA, ALCIDES GODOY e JOSÉ GOMES DE FARIA. Foi esse o assunto de um dos primeiros trabalhos de ROCHA-LIMA, publicado em Juiz de Fora em 1906, bem como da tese de doutoramento de GOMES DE FARIA e de uma publicação de GODOY nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. A propósito transcreveremos o que a respeito escreveu GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO, um dos mais notáveis biologistas e pesquisadores do Instituto, e biógrafo autorizado de GOMES DE FARIA:

"Em fins de 1908, inaugurado o Instituto de Manguinhos, J. GOMES DE FARIA publicou, com A. GODOY, na *Revista Médica de São Paulo*, a nota lida no Sexto Congresso de Medicina e Cirurgia: "Sobre um novo processo de vacinação contra o carbúnculo sintomático".

"Imprimiu também GOMES DE FARIA a *Dissertação inaugural*: exposição metódica e completa do que se fizera e do que fez. Tudo posto a prova: a sintomatologia da doença, a necroscopia, o cultivo e metabolismo do clostrídio, os soros aglutinantes, as vacinas antes propostas e a nova vacinação.

(*) *Brazil-Medico*, Ano 15, N.º 45, pp. 443-447; N.º 47, pp. 463-466; N.º 48, pp. 473-477.

(**) *Centralblatt fuer Bakteriologie*, Vol. 32, pte. I, Originale, pp. 911-920.

"A base do método de produzir a vacina era a propriedade conhecida, bem comprovada por J. GOMES DE FARIA, mas de que não se havia tirado partido: a acção deletéria da glicose no *Clostridium Chauveaui* em cultura, degenerando as formas vegetativas e reduzindo a esporulação.

"Em 1909, na Exposição de Hamburgo, estava com as demais realizações do Instituto de Manguinhos:

"*Vacina contra o carbúnculo sintomático (Peste da manqueira)*:

"É preparada de acordo com processo estudado no Instituto. Consiste em cultura líquida do bacilo atenuado. É dosada por processo do Instituto. Tem sido utilizada nas zonas pastorís do Brasil com o mais completo resultado".

"Pelo alto poder imunizante, inocuidade, singeleza de produção e de emprego teve aceitação desde logo e tornou-se clássica".

Como se vê, essa importante aquisição, que veio a proteger os rebanhos bovinos do Brasil e de outras regiões em que grassa a devastadora enzootia, foi o resultado do trabalho de um grupo de pesquisadores, do qual faziam parte ROCHA-LIMA, ALCIDES GODOY e GOMES DE FARIA.

ESTUDOS SOBRE A LEPRA

ADOLPHO LUTZ, nos intervalos do exercício da clínica a que se dedicara, em Petrópolis, no Estado do Rio de Janeiro, em Limeira, no Estado de São Paulo e em São Francisco da Califórnia, nos Estados Unidos da América, achara tempo de se dedicar ao estudo do bacilo da lepra (hoje *Mycobacterium leprae*, mas para o qual LUTZ propusera o novo gênero COCCOTHRIX) no serviço de UNNA, em Hamburgo, na Alemanha, e de dirigir em Honolulu, no Hawai, de 1889 a 1892, os serviços de assistência e de profilaxia da lepra. Voltando em seguida ao Brasil, era naturalmente um dos maiores conhecedores dessa doença e sobre sua transmissão tinha idéias próprias. Em Manguinhos intransigentemente defendia a doutrina da transmissão da lepra pelos mosquitos culicídeos, lá despertando o interesse de vários pesquisadores para esse assunto e fazendo com que, entre estes, GUSTAVO DE OLIVEIRA-CASTRO e H. C. DE SOUZA-ARAUJO a respeito publicassem interessantes trabalhos.

Ao tratarmos das actividades do Instituto Oswaldo Cruz no domínio da bacteriologia e particularmente no dos estudos sobre lepra, não podemos deixar de mencionar o papel que durante muito tempo ele representou, como centro de estudos de Leprologia. Relevante ou não, esse papel, deve-o Manguinhos à dedicação e à perseverança de HERACLIDES CEZAR DE SOUZA-ARAUJO que, durante mais de quarenta anos, se ocupou do estudo da lepra, sob seus mais diversos aspectos. Os trabalhos de SOUZA-ARAUJO sobre o bacilo da lepra e as tentativas que fez para sua cultura e inoculação foram objecto de muitas críticas e objecções, mas, na verdade, parece-nos que ainda está por ser pronunciado um juízo definitivo a respeito. É pelo menos o que se conclui de algumas publicações recentes a respeito da produção experimental da doença.

A SUPOSTA FILTRABILIDADE DO BACILO DA TUBERCULOSE E DE ALGUNS OUTROS MICRORGANISMOS

Durante alguns anos, tiveram bastante repercussão os trabalhos de ANTONIO CARDOSO FONTES sobre uma suposta filtrabilidade do bacilo da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) e sobre a existência de formas filtráveis desse microrganismo. Realizados inicialmente em Manguinhos, esses trabalhos foram retomados anos mais tarde por alguns estagiários do laboratório de CALMETTE, no Instituto Pasteur de Paris. Tais trabalhos nunca chegaram a ter geral aceitação por parte dos bacteriologistas, nem no Brasil nem no estrangeiro, e até hoje não tiveram confirmação.

Julgam alguns pesquisadores, mas não têm que o saibamos registado isso em quaisquer publicações, que a existência modernamente comprovada de formas filtráveis de outras bactérias (*Salmonella, Proteus, Haemophilus* e até de *Escherichia coli*) represente um indício do acerto das pesquisas de FONTES sobre o bacilo da tuberculose e que a confirmação dos resultados por este pesquisador obtidos não tenha sido feita até agora por não terem sido suficientemente amplas e profundas as pesquisas modernas sobre o bacilo de tuberculose (*).

(*) Que hoje não é admitida a filtrabilidade do bacilo da tuberculose, provam-no as citações abaixo, dos tópicos relativos ao assunto, encontrados em publicações recentíssimas:

Seja como for, influenciado pelos estudos de FONTES, outro técnico, então trabalhando em Manguinhos, ARTHUR MOSES, quis estender a noção de filtrabilidade a certos cogumelos patogênicos, eumicetos que hoje se sabe pertencerem ao gênero *Trichosporon*. Assim foi que, de lesões cutâneas encontradas num cadáver necropsiado por GASPAR VIANNA, obteve MOSES culturas contendo uma mescla de microrganismos que foram descritos como pertencentes a uma espécie única que recebeu o nome de *Proteomyces infestans*. Evidentemente, os resultados obtidos na filtração desse cogumelo e dos contaminantes que o acompanhavam só podem ser explicados por erros de técnica.

TRABALHOS SOBRE ENTEROBACTÉRIAS

Deve-se a JOSÉ GOMES DE FARIA, que, em tantos outros campos de pesquisa científica foi um vanguardeiro no Brasil, o início dos estudos visando esclarecer a etiologia das enterites, diarréias e disenterias aqui observadas e que tão importante papel representam como causa de mortalidade infantil. Esses estudos tiveram início na "Policlínica de Crianças José Carlos Rodrigues", da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro. Dessa Policlínica era director, por indicação do grande pediatra francês HUTINEL, o não menos ilustre pediatra e homem de letras, FERNANDES FIGUEIRA. Foi a convite deste último que GOMES DE FARIA lá assumiu as funções de chefe de laboratório e nessa qualidade empreendeu os primeiros estudos sérios que se fizeram no Brasil sobre enterobactérias, assunto que está na base de qualquer solução de um dos maiores problemas sanitários do Brasil, o da mortalidade infantil. Tais estudos o conduziram em 1923 e 1924, a determinar a etiologia da disenteria bacilar no Rio de Janeiro. Foi esse o ponto de partida da organização de um grupo de trabalho, do qual logo depois um dos componentes, GENESIO PACHECO, foi enviado à Bahia onde, em 1924, esclareceu a natureza de uma epidemia reinante, como sendo de febre tifóide e de origem hídrica. Ao mesmo tempo estudava ele naquela cidade as disenterias, cuja etiologia bacteriana, como uma shigelose, pôde demonstrar, contrariando as idéias então lá correntes que as consideravam produzidas por protozoários. No decurso desses estudos foi estabelecido um novo processo de diagnóstico da disenteria bacilar, que permite firmá-lo no prazo de 24 horas, processo esse recomendado pelos autores franceses e mencionado nos compêndios de bacteriologia.

Ainda no mesmo terreno de investigação, se situam os trabalhos publicados por GENESIO PACHECO e seus colaboradores, sobre as propriedades antigênicas da *Salmonella typhi* (=*Eberthella typhosa*), o bacilo tífico, e a técnica de avaliação da aglutinação "Vi", na pesquisa de portadores de bacilos tíficos.

O estudo sobre este grupo de microrganismos foi estendido ao campo da veterinária, com investigações realizadas sobre a salmonelose bovina e sobre o grupo *pullorum-gallinarum*. Essas pesquisas foram realizadas por GENESIO PACHECO, quando trabalhava no Instituto Biológico de São Paulo.

GOBERT DE ARAUJO COSTA e seus colaboradores realizaram pesquisas sobre as técnicas de preparo da vacina TAB; modificações do meio de Monteverde para triagem e identificação sumária de enterobactérias; incidência de bacilos "para-coli" (hoje grupados sob nomes de *Arizona, Citrobacter, Providencia*); levantamento da incidência de enterobactérias dos gêneros *Salmonella* e *Shigella* nas diarréias infantís no Rio de Janeiro; presença e incidência de colibacilos patogênicos, de *Salmonellae*, em águas de esgotos sanitários e, também, nos gânglios pre-escapulares de suínos abatidos em matadouros, num e noutro caso, verificação importante no que se refere à disseminação de tais germes e à propagação das doenças por eles produzidas.

"This subject was reviewed in the second edition of TOPLEY and WILSON (pp. 291-3), and the conclusion was reached that no satisfactory evidence has been brought forward to prove the existence of such forms. The more recent findings of SOLTYS and TAYLOR (1944) support this conclusion; and there seems no justification for considering at length the significance of observations that were almost certainly the result of faulty technique. MATTMANN and his colleagues (1960) suggest that some of the atypical structures and filterable forms that have been described are in fact stages of an *L* cycle in mycobacteria giving forms similar to the *L* forms described in other genera". (TOPLEY and WILSON, *Principles of Bacteriology* — 1966 — Pág. 542).

Na edição de 1967 da *Microbiologia* de ZINNSER (tradução espanhola de A. C. BUSTOS) está também escrito: "No hay pruebas convincentes acerca de la existencia de una etapa filtrable en el ciclo evolutivo del bacilo tuberculoso".

Na 14.ª edição, de 1970, do livro hoje clássico de OTTO BIER, *Bacteriologia e Imunologia*, a páginas 34-35, lê-se: "Embora a existência de uma forma filtrável do bacilo da tuberculose não seja hoje admitida pela maioria dos autores, está provado que em numerosas bactérias (*Streptobacillus, Proteus, Escherichia, Salmonella, Bacteroides, Haemophilus*, etc.), além da multiplicação binária, há formação de intumescências ("Large bodies" ou corpúsculos *L*), de 20 a 50 mμ de diâmetro, que se desagregam em partículas de mμ 0.3 — 0.5 semelhantes às dos microrganismos do grupo PPLO..." (*pleuro-pneumonia like organisms*).

Em tais trabalhos tomaram parte, entre outros, os seguintes técnicos do Instituto Oswaldo Cruz: WASHINGTON AUGUSTO DE ALMEIDA, NIBER DA PAZ MOREIRA DA SILVA, ERNESTO HOFER e ALTAIR ANTUNES ZEBRAL.

Como consequência desses estudos, dos bacteriologistas e dos laboratórios da especialidade do Instituto Oswaldo Cruz, GOBERT ARAUJO COSTA foi convidado a tomar parte na avaliação da padronização da vacina anti-tífica, que se realizou de 1961 a 1962, com a cooperação de técnicos de vinte países e com a supervisão do Instituto Soroterápico de Copenhague, na Dinamarca, famoso centro desse tipo de trabalho.

OUTROS TRABALHOS DE BACTERIOLOGIA

Outros trabalhos de bacteriologia merecem uma referência. JOSÉ GUILHERME LACORTE fez o primeiro diagnóstico bacteriológico de brucelose no Rio de Janeiro e os primeiros estudos experimentais no Brasil sobre o bacilo de Friedlaender (*Klebsiella pneumoniae*), sobre infecções urinárias pelo bacilo piociânico (*Pseudomonas aeruginosa*) e sobre as reacções sorológicas para o diagnóstico da tularemia. Estas últimas foram negativas em mais de mil casos em que se pretendia verificar a causa da hepatite subsequente ao emprego da vacina anti-amarílica. No curso desses estudos ficou provado que essa manifestação era a hepatite por soro homólogo, não sendo provocada pela tularemia nem por outras doenças infectuosas. Na tularemia as aglutininas persistem por tão longo prazo que se tornam elemento seguro para o diagnóstico retrospectivo.

OSWALDO CRUZ FILHO, no simpósio que a respeito se realizou em Santiago do Chile, concorreu para que se estabelecesse a padronização das emulsões utilizadas para o diagnóstico da brucelose, as quais, empregadas em concentrações demasiadamente fortes dão sempre resultados positivos e utilizadas em soluções excessivamente diluídas dão resultados sempre negativos. Isso explica porque, entre nós, tantos casos de brucelose tenham sido erroneamente diagnosticados.

Também estudos sobre anaeróbios foram realizados, particularmente os de GOBERT DE ARAUJO COSTA, relativos a hemaglutininas do *Clostridium perfringens* e as decarboxilases em bactérias do mesmo gênero. GENESIO PACHECO colaborou com o Professor ALVARO OZORIO DE ALMEIDA, em seus ensaios de tratamento das gangrenas experimentais pelo oxigênio em estado nascente e sob alta pressão.

ULTRAVÍRUS E RICKÉTTSIAS

ULTRAVÍRUS

Em outros capítulos do presente trabalho referimos as pesquisas realizadas em Manguinhos sobre a febre amarela e sobre a gripe e nada diremos aqui em relação a essas duas doenças, uma vez que elas, por sua importância nos estudos de Manguinhos, mereceram referência especial.

Dentre as outras viroses estudadas no Instituto Oswaldo Cruz, merecem destaque a varíola, o alastrim, o granuloma venéreo, as pan-encefalites sub-agudas esclerosantes e o mixoma dos coelhos. Isso, além dos trabalhos sobre bacteriófagos da autoria de COSTA-CRUZ.

VARÍOLA E ALASTRIM

Nos primeiros anos do século actual, era a varíola ainda endêmica no Rio de Janeiro e em outras partes do Brasil, surtos epidêmicos de maior ou menor gravidade oferecendo oportunidade para pesquisas sobre a doença. Isso aconteceu em 1908, quando em Manguinhos STANISLAS VON PROWAZEK e HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO publicaram em colaboração um trabalho sobre a filtrabilidade do vírus da varíola e os corpúsculos observados no filtrado do conteúdo das respectivas pústulas, corpúsculos que foram por eles considerados representativos do micróbio da varíola.

Vêm de longa data as discussões sobre a identidade da varíola e do alastrim. E' indubitável que entre as duas doenças exista um grau mais ou menos acentuado de imunidade cruzada, uma imunidade de grupo. Parece-nos, entretanto, que a isso se reduza, e assim mesmo somente até certo ponto, a identidade de características das duas doenças.

Pelo menos é nesse sentido que falam os resultados dos estudos realizados em Manguinhos.

São já antigos os trabalhos brasileiros sobre o diagnóstico diferencial entre varíola e alastrim, dentre eles se destacando, em São Paulo, os de EMÍLIO RIBAS que, após minuciosos estudos de ordem clínica, foi levado à conclusão de que se trata realmente de duas doenças diferentes. A conclusão diversa, entretanto, chegara também em São Paulo, ANTONIO CARINI (1910) que admitiu ser a benignidade o único carácter que distingue o alastrim da varíola.

Mas, como HENRIQUE ARAGÃO, em Manguinhos, acentua, outros caracteres permitem essa distinção: a predilecção do alastrim pelos adultos, a falta de umbilicação das pústulas, a ausência do odor desagradável característico dos variolosos. Acrescentaríamos o bom estado geral, mesmo nos casos de erupção confluente, o que nunca se verifica na varíola. Em relação à imunidade para a vacina antivariólica, diz ARAGÃO: "Em Lassance, tivemos ocasião de vacinar 19 indivíduos que haviam tido *varíola mansa* há menos de um ano, obtendo 11 casos de formação de pústulas vacinais, ou seja uma proporção de 58% de resultados positivos. Em relação à imunidade conferida pela vacina, ela é mais eficaz. Contudo o Dr. RIBAS cita casos de pessoas que adquiriram alastrim um e dois anos após a vacinação positiva e o Dr. RUDOLPH assinala igualmente 3 casos de alastrim em pessoas vacinadas". Acrescentaremos que, nós mesmo, apesar de frequentemente vacinado contra a varíola, em Lassance adquirimos alastrim.

Em relação ao vírus e às reacções celulares por ele provocadas, diz ARAGÃO (1911): "A presença de micróbios semelhantes aos da varíola no alastrim e a observação de corpúsculos semelhantes aos de GUARNIERI nos cortes de pústulas e nas córneas inoculadas não provam a identidade do alastrim e da varíola. E' sabido que micróbios com a mesma morfologia dos da varíola se encontram na vacina, no epitelioma das aves e nós também os temos encontrado na varicela. Recentes pesquisas de BERTARELLI (1909), de KEYSSELITZ e MEYER (1909) e de LEVADITI (1911) provam que também na varicela se encontram corpúsculos semelhantes aos de GUARNIERI, e ninguém, por isso, considera a varicela *varíola vera*".

Os estudos de MAGARINOS TORRES e de CASTRO TEIXEIRA, sobre o diagnóstico diferencial entre as inclusões citoplasmáticas do alastrim e da varíola são concludentes no mesmo sentido. Em Manguinhos, verificaram TORRES e TEIXEIRA que pelo método de UNNA (hemalume safranina) modificado, as inclusões do alastrim não se colorem pela safranina e contrastam fortemente com os nucléolos que têm uma grande afinidade para esse corante. Esse processo permite distinção fácil entre as inclusões citoplasmáticas do alastrim e da varíola. Com efeito, HAMMERSCHMIDT e PAUL mostraram que as inclusões citoplasmáticas da varíola coram-se pela safranina quando usado o método de UNNA, sendo altamente específica essa coloração. Tal facto foi confirmado por TORRES e TEIXEIRA. Esses autores verificaram que as inclusões citoplasmáticas do alastrim são geralmente solitárias e coram em azul-violeta pela hematoxilina-eosina (basofilia). As mesmas inclusões na varíola são geralmente múltiplas e menos volumosas, apresentando *acentuada acidofilia*. Nas inclusões nucleares, também há diferenças. As da varíola têm às vezes aspecto muito característico, segundo LANDA e LUGER: "ein ausserordentlich sharf unschreibener und daher korpuskulaer erscheinender rundlicher oder ovaler Koerper von verschiedener Grosse". São formadas de corpúsculos acidófilos de contornos nítidos, forma redonda ou oval, em número de 2 ou 3, às vezes solitárias no interior do núcleo que está com o volume diminuído. São separadas da membrana nuclear espessada e enrugada, por uma zona clara sem estrutura. Vêem-se zonas cromófobas que parecem pequenos vacúolos no interior dos corpúsculos intranucleares.

Não viram TORRES e TEIXEIRA tais aspectos nas inclusões intranucleares do alastrim. Os núcleos das células epidérmicas que as encerram estão geralmente aumentados de volume e a inclusão tem aspecto retiforme.

Por outro lado, TORRES e TEIXEIRA (1934) dizem que "foram notadas diferenças, pequenas mas nítidas, na morfologia das inclusões do alastrim e da vacina, em material fixado pelo líquido de Helly... As inclusões do alastrim se apresentam de grandes dimensões, conservam-se únicas e solitárias no citoplasma das células epidérmicas do *M. rhesus* e coram-se em tonalidade que varia do azul escuro ao cinzento azulado. Contudo, em células que sofreram necrose, ou naquelas contendo 2 a 4 inclusões de pequenas dimensões, por vezes elas se mostram coradas em róseo.

"As inclusões da vacina, quando em fase adiantada de desenvolvimento, são múltiplas nas células epidérmicas do *M. rhesus* e mostram, regularmente, uma policromatofilia característica".

Ainda em Manguinhos, ANTONIO SOTERO CABRAL verificou distinção nítida entre as lesões de varíola e de alastrim, quando os respectivos vírus são inoculados na membrana cório-alantóide do embrião de galinha.

Diante desses resultados que, por tantas e tão variadas vias, mostram aspectos diversos das lesões produzidas pelos vírus da varíola e do alastrim, só se pode concluir de que se trata de duas doenças diferentes. A essa conclusão em 1911, tinha já chegado ARAGÃO, quando escrevia: "Do que até aqui vimos expondo, decorre que o alastrim, embora apresentando certa semelhança com a varíola, é perfeitamente distinto dela, por numerosos aspectos, que lhe outorgam a mais completa autonomia, como tipo mórbido, conclusão a que já anteriormente chegara o eminente EMÍLIO RIBAS, que minuciosamente estudou a doença em São Paulo".

GRANULOMA VENÉREO

Em 1913, HENRIQUE ARAGÃO e GASPAR VIANNA estudaram o granuloma venéreo, publicando uma nota no *Brasil-Médico* e, depois, nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Vol. V), um bem documentado trabalho com a descrição clínica, o estudo histo-patológico e o resultado terapêutico brilhante que obtiveram pelo uso do tártaro-emético. Esses estudos foram importantes também porque permitiram se afastassem definitivamente as hipóteses de origem sifilítica ou tuberculosa do granuloma venéreo, as quais até então ainda eram admitidas por vários autores. ARAGÃO e VIANNA, outrossim, confirmaram a presença nos cortes histológicos das lesões de granuloma venéreo dos corpúsculos que DONOVAN (1905), SIEBERT (1907) e FLU (1911) tinham anteriormente encontrado e descrito. Quanto, porém, às culturas obtidas de um bacilo encapsulado que cresceria em vários meios artificiais e a que fora dado, por ARAGÃO e VIANNA, o nome de *Callimatobacterium granulomatis*, os estudos subsequentes do próprio HENRIQUE ARAGÃO mostraram ser ele apenas um contaminante acidental.

PAN-ENCEFALITES

ALEXANDRE ALENCAR e ESTÁCIO MONTEIRO (1971), pela primeira vez no Brasil e uma das poucas vezes no mundo, conseguiram a transmissão do vírus das pan-encefalites sub-agudas e esclerosantes ao "rhesus" (*Macaca mulatta* = *Macacus rhesus*), demonstrando tratar-se de um "slow--vírus".

MIXOMA DOS COELHOS

Trabalhos de importância sob o ponto de vista da microbiologia geral, embora não dizendo respeito à patologia humana, foram os realizados por HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO sobre o mixoma dos coelhos, doença primeiro descrita por SANARELLI, que, lucidamente, lhe entreviu a etiologia. Resume ARAGÃO suas conclusões, escrevendo: "Nossas pesquisas sobre o assunto levaram-nos à verificação da existência no mixoma dos coelhos de um micróbio semelhante ao da varíola, *molluscum contagiosum*, epitelioma das aves, etc., mas que não provoca a formação de inclusões no protoplasma celular, e que incluimos entre os estrongiloplasmas, como propõe LIPSCHUETZ para esse grupo de vírus, o que, no caso do mixoma, é mais aceitável do que entre os *clamidozoários*".

Em seu trabalho de 1927, diz ARAGÃO: "*Virus oedematosum cuniculi*, seria o nome apropriado e não *virus mixomatosum cuniculi*. CROWELL mostrou [também em Manguinhos] que o tecido formado não é mixomatoso e, sim, edematoso".

Nesse mesmo trabalho, sugeriu ARAGÃO a possibilidade de utilizar-se o vírus do mixoma dos coelhos para o combate aos coelhos que, na Austrália, se tornaram uma praga destruidora das culturas. Muitos anos depois, foi seu conselho posto em prática e a experiência tentada naquele país.

Por outro lado, a introdução intencional do mixoma na França, por particulares que assim pretendiam defender suas culturas contra a devastação produzida pelas lebres e coelhos, deu em resultado, em algumas áreas, a destruição desses animais que lá são apreciados, não só pelo interesse cinegético, como, mais ainda, pela importância econômica, uma vez que fornecem a matéria-prima da maior parte das peles de agasalho.

Ainda em Manguinhos, ARTHUR MOSES, do mesmo modo que A. SPLENDORE em São Paulo, se ocupou da filtrabilidade do vírus do mixoma.

Em 1943, voltando ao assunto, HENRIQUE ARAGÃO demonstrou a transmissão do vírus do mixoma pelo *Stegomyia aegypti* e pelo *Aedes scapularis*, transmissão que anteriormente tinha sido comprovada por SYLVIO TORRES com o *Culex quinquefasciatus*.

Em Manguinhos, também FRANCISCO DE PAULA DA ROCHA-LAGOA se ocupou da acção dos raios X sobre o vírus do mixoma.

BACTERIÓFAGOS

Os trabalhos de COSTA-CRUZ, sobre bacteriófagos, foram realizados logo após a descoberta por D'HERELLE, desses vírus que atacam microrganismos. Não viveu COSTA-CRUZ o bastante para prosseguir nas pesquisas que nesse terreno tão bem iniciara, nem para ver a transformação pela qual todos esses estudos sobre vírus passariam com o advento da microscopia electrônica. Quando trabalhava COSTA-CRUZ sobre o assunto, ainda se discutia se o fenômeno da bacteriofagia era de ordem microbiológica, devido a um agente vivo, ou se, simplesmente, se tratava de uma acção química particular. Foi ainda COSTA-CRUZ o introdutor do emprego dos bacteriófagos na terapêutica, aplicando-os ao tratamento das disenterias bacilares.

RICKETTSIOSES

Em relação às rickettsioses, as pesquisas brasileiras mais importantes se fizeram sem dúvida em São Paulo, com os trabalhos de LEMOS MONTEIRO, de FLÁVIO DA FONSECA, de VALLEJO FREIRE (todos discípulos de Manguinhos), de JOAQUIM TRAVASSOS DA ROSA e de AFRÂNIO DO AMARAL. Esses autores trouxeram contribuições relevantes para o conhecimento do tifo murino e da febre maculosa que se encontra espalhada em todo o Continente americano e que foi entre nós conhecida durante algum tempo como "tifo de São Paulo" e "tifo de Minas Gerais". Esta última denominação lhe adveio em consequência dos estudos de OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES, na antiga filial de Manguinhos em Belo-Horizonte, que hoje constitui o Instituto Ezequiel Dias.

Entretanto, mesmo em sua sede do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro, se realizaram muitos estudos sobre o assunto, neles tendo trabalhado, primeiramente JOSÉ DE CASTRO TEIXEIRA, e, depois, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, JULIO MUNIZ e REGENDANZ, ROCHA-LAGOA e JOAQUIM TRAVASSOS DA ROSA, este vindo de São Paulo para Manguinhos. JULIO MUNIZ e REGENDANZ concorreram para o conhecimento do papel representado na transmissão da febre maculosa pelo ixodídeo ou carrapato tão comum no Brasil, o *Amblyomma cayennense*.

E' preciso salientar que a JOSÉ DE CASTRO TEIXEIRA coube o papel de pioneiro, organizando em condições técnicas modernas as instalações para o perigoso trabalho sobre a febre maculosa, em que o manejo das larvas infectadas de carrapatos tem acarretado muitos acidentes fatais.

Também durante alguns anos trabalhou em Manguinhos o Dr. HÉLIO GELLI PEREIRA que se especializara na Inglaterra, onde muito investigou o resfriado comum e onde acabou por fixar-se.

FEBRE AMARELA

Dois trabalhos da maior importância sobre as lesões histológicas na febre amarela saíram dos laboratórios de Manguinhos. São eles da autoria de ROCHA-LIMA e de MAGARINOS TORRES.

Foram dos primeiros tempos de Manguinhos os trabalhos hoje clássicos de ROCHA-LIMA sobre a anatomia patológica do tifo icteróide. É o próprio ROCHA-LIMA quem o diz, comentando "sobre a utilidade do exame histológico do fígado para o diagnóstico *post-mortem* da febre amarela, como havia sido observado em Manguinhos em 1905, publicado em 1911" na Alemanha, "e ao que nesse intervalo se referiam as cartas de OSWALDO CRUZ". Graças a esses trabalhos pôde ser determinado em bases firmes o diagnóstico *post-mortem* da doença estabelecido pela presença de uma necrose médio-lobular do fígado, a qual recebeu o nome de *lesão de Rocha-Lima*. Essa lesão típica e característica passara despercebida no Brasil às duas missões que para aqui foram enviadas afim de estudar a febre amarela, a missão francesa composta de MARCHOUX, SALIMBENI e SIMOND, e a missão alemã de OTTO e NEUMANN. O significado diagnóstico da *lesão de Rocha-Lima*, sobre cuja importância e utilidade prática MAGARINOS TORRES em Manguinhos e H. CHIARI em Berlim, ulteriormente insistiram, foi por vezes posto em dúvida, se lhe contrapondo a descrição de COUNCILMANN, a quem, entretanto, haviam escapado os aspectos mais característicos dessas lesões do fígado. Graças ao conhecimento da lesão que ROCHA-LIMA foi o primeiro a descrever, tornou-se possível mais tarde a

determinação das áreas de distribuição e dos períodos de incidência da febre amarela silvestre. O exame dos fragmentos de fígado, colhidos por viscerotomia, dos indivíduos mortos de uma doença febril de curta duração, sem diagnóstico preciso, permitia que não passassem despercebidos muitos casos de febre amarela. O exame histo-patológico em questão é feito em laboratórios especializados, no Brasil no Laboratório de Febre Amarela organizado pela Fundação Rockefeller e transferido em 1949 para o Instituto Oswaldo Cruz. Chefiaram esse laboratório a princípio HENRIQUE PENNA, em seguida MADUREIRA PARÁ, que ambos se tornaram autoridades em matéria de histo-patologia do fígado.

As lesões do rim na febre amarela consistem principalmente num processo de degeneração lipídica e necrose das células do epitélio dos canalículos renais, o qual assume extensão variável. Ao lado disso, é característica a presença de cilindros calcáreos, assinalada em Havana por W. H. HOFFMANN em 1924, essa descoberta tendo sido publicada no Rio de Janeiro (*Sciencia Medica*, Ano II, N.º 6, pág. 284).

Como é bem sabido, em 1928 foi a febre amarela reintroduzida no Rio de Janeiro, talvez trazida do interior do país por soldados que a tinham adquirido nas áreas em que a doença era endêmica sob a forma silvestre. De qualquer modo, sua presença foi denunciada primeiro no Hospital Central do Exército (HCE) pelos médicos militares Drs. AUGUSTO MARQUES TORRES, que fez o diagnóstico clínico, ARÍDIO MARTINS que praticou a necrópsia e CALEB BONFIM que, estagiando no Instituto Oswaldo Cruz, para lá levou o material a fim de ser examinado. O diagnóstico histo-patológico foi então confirmado por MAGARINOS TORRES e depois pelo Prof. ROCHA-LIMA. A doença rapidamente se espalhou nos diversos bairros da cidade. Ocorreram então cerca de 1200 casos confirmados por necrópsia e houve múltiplas oportunidades para se retomarem os estudos experimentais sobre febre amarela.

Por essa ocasião HENRIQUE ARAGÃO fez a primeira tentativa de preparo de uma vacina contendo o vírus da febre amarela, a qual (ainda não se conhecia a técnica de cultura em embrião de galinha) era preparada com o fígado de macacos *rhesus* e *cinomolgus* experimentalmente infectados. Inoculada em grande número de indivíduos não imunes, entretanto, essa vacina não se mostrou capaz de impedir a infecção de vários deles.

Foi então que, em relação à histo-patologia da febre amarela, em Manguinhos, CARLOS BASTOS DE MAGARINOS TORRES trouxe outra contribuição do mais alto interesse. Nos casos humanos de febre amarela em que a morte sobrevinha nos primeiros dias da doença, bem como nos macacos inoculados e sacrificados nas mesmas condições, verificou TORRES a ocorrência, nos núcleos das células hepáticas, de alterações representadas pela presença de formações especiais que ele denominou *inclusões oxicromáticas*. Como acabamos de dizer, esse tipo de lesão ocorre já nas fases iniciais da doença e é aí patognomônico da febre amarela, como a lesão de ROCHA-LIMA o é nos estádios mais avançados da infecção.

Trabalhos de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, de ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, de JULIO MUNIZ e de ANGELO MOREIRA DA COSTA-LIMA, durante a epidemia que ocorreu no Rio de Janeiro em 1928, vieram esclarecer vários aspectos particulares do comportamento do vírus da febre amarela. Também em Manguinhos, JOSÉ DA COSTA-CRUZ pôde estabelecer um método de diagnóstico da febre amarela pela dosagem da alexina ou complemento que, como aquele pesquisador foi o primeiro a demonstrar, dá resultados muito baixos nessa infecção.

Nessa mesma oportunidade foi convidado a vir ao Brasil com seus assistentes, tendo as despesas pagas pelo Dr. GUILHERME GUINLE, o conhecido pesquisador alemão, Prof. KUCZINSKY, que com HOEHNADEL, tinha descrito como agente produtor da febre amarela o *Bacillus hepatodystrophicans*. Em sessão da Sociedade Brasileira de Biologia, realizada em Manguinhos e na qual esse cientista apresentou o seu trabalho, pôde COSTA-CRUZ demonstrar que o bacilo em questão representava apenas o papel de germe de infecção secundária. Foi então o *Bacillus hepatodystrophicans* fazer parte da já grande colecção de falsos agentes da febre amarela, de que o *Cryptococcus xanthogenicus*, de DOMINGOS FREIRE, os bolores de JOÃO BAPTISTA DE LACERDA, o *Bacillus icteroides* de SANARELLI, o *Paraplasma flavigenum* de SEIDELIN e, por fim, o *Leptospira icteroides* de NOGUCHI, tinham sido os precursores. Como se vê, foram muito numerosos os microrganismos que diferentes autores descreveram como sendo o "agente produtor" da febre amarela. Em 1930, recordando sua experiência pessoal no estudo dessa doença, ADOLPHO LUTZ escreveu (*):

"No período em que predominava a bacteriologia, era natural que as pesquisas fossem todas dirigidas para a descoberta de um germe novo. Eu mesmo gastei muito tempo e trabalho nesta ocupação... O sangue também foi pesquisado em procura de espiroquetas e de protozoários... Con-

(*) *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 14 (3): 127-160.

firmei que nem nos cortes, nem nos esfregaços se podia observar um germe que parecia em relação com as alterações observadas". Esses estudos de LUTZ tinham sido realizados em vários períodos, desde 1882, até o princípio do século XX.

Não teria, por conseguinte, cabimento mencionar aqui um desses microrganismos, se não fosse a circunstância de ter sido ele durante muitos anos considerado o verdadeiro produtor da febre amarela. RICHARD P. STRONG, o eminente tropicalista da Universidade de Harvard, assinalou essa circunstância no capítulo sobre a febre amarela do tratado com que continuou a obra clássica de STITT. Em 1945, dizia STRONG que durante uma década o *Leptospira icteroides* de NOGUCHI fora admitido e considerado como o verdadeiro agente da doença, e acrescentava: "Tal conclusão parecia ter apoio suficiente nos resultados que se referiam da soroterapia e da vacinação".

Logo que se anunciaram os resultados das investigações realizadas por NOGUCHI em Guaiaquil, CARLOS CHAGAS (pai), então director do Instituto Oswaldo Cruz, procurou interessar no assunto os técnicos de Manguinhos, enviando vários deles à cidade mais importante do Brasil onde naquela ocasião grassava endêmica a febre amarela, a Cidade do Salvador, na Bahia.

Tacitamente se admitia que os pesquisadores de Manguinhos, assim comissionados, deveriam confirmar os trabalhos de NOGUCHI e encontrar nos casos de febre amarela observados na Bahia o *Leptospira icteroides* que o sábio japonês descobrira em Guaiaquil e que, mais tarde, também na Bahia, iria encontrar.

Mas, então é que vieram as desilusões. Durante meses, na cidade baiana, se sucederam as missões do Instituto Oswaldo Cruz (mais tarde viriam também de São Paulo), com ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, JOSÉ GOMES DE FARIA, CARLOS BASTOS DE MAGARINOS TORRES, CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO e quem escreve estas linhas. Todas elas, entretanto, apesar das facilidades proporcionadas, principalmente pelos eminentes Professores CLEMENTINO FRAGA, GONÇALO MONIZ e OCTAVIO TORRES, os dois últimos em seus laboratórios da tradicional Faculdade de Medicina da Bahia, onde tínhamos o nosso centro de operações, e pelos colegas do Hospital de Isolamento, em Monte-Serrate, os, depois Professores EDUARDO ARAUJO e AGRIPINO BARBOSA, nada conseguiam observar que confirmasse o que descrevia NOGUCHI.

Era tal, porém, o prestígio do grande pesquisador japonês, justamente afamado por seus trabalhos anteriores, que, se pode dizer, ninguém acreditava — pelo menos até ir pessoalmente à Bahia verificar os factos — que o insucesso das pesquisas pudesse ser devido à inexistência do *Leptospira* nos casos de febre amarela examinados. Todos pensavam, e muitos francamente o diziam, que fosse ele devido à inexperiência dos pesquisadores de Manguinhos e à sua falta de preparo num campo de trabalho então inteiramente novo, como era o dos leptospiras.

Uma excepção a essa voz geral era, no Instituto Oswaldo Cruz, representada por ADOLPHO LUTZ. No discurso que pronunciou por ocasião das homenagens póstumas prestadas àquele grande cientista e promovidas em Belo Horizonte pela Associação Médica de Minas Gerais, o ilustre pesquisador de Manguinhos e reitor da Universidade daquele Estado, OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES, teve ocasião de registar a posição de ADOLPHO LUTZ no que se refere às pesquisas de NOGUCHI sobre a etiologia da febre amarela. Diz OCTAVIO DE MAGALHÃES: "Quando NOGUCHI, em 1919, despertava o entusiasmo entre alguns discípulos da Escola de OSWALDO CRUZ, com o seu *Leptospira icteroides*, LUTZ, consciente de seu profundo e inigualável espírito de observação e saber, afirmava em Manguinhos que, se a febre amarela tivesse por agente etiológico uma *Spirochetaceae*, ele, LUTZ, a teria visto... Os trabalhos dos técnicos de Manguinhos que foram observar a epidemia no Estado da Bahia, antes da Comissão Americana na África, confirmaram as idéias primitivas sobre o vírus do tifo icteróide e o engano de NOGUCHI. Felizmente, o ilustre Professor OLYMPIO DA FONSECA publicou, no tempo, um pequeno folheto, sobre aqueles resultados, infelizmente pouco conhecido".

De facto, numa terceira leva de pesquisadores de Manguinhos, fôramos nós também incluído, ao lado de ARISTIDES MARQUES DA CUNHA. Ao contrário, porém, dos demais colegas do Instituto, resolvemo-nos a enfrentar (no "folheto" a que se referiu OCTAVIO DE MAGALHÃES em seu discurso) a opinião que nos era contrária e a contestar sozinho os resultados assinalados por NOGUCHI. Era a primeira vez que alguém o fazia de público. Fizemo-lo em um trabalho que apresentamos ao IV Congresso Brasileiro de Higiene, reunido de 14 a 20 de Janeiro de 1928, na própria cidade da Bahia. Aí, foi o nosso trabalho recebido com as mais formais contestações, entre outras a do relator do tema no Congresso, que era o ilustre e respeitado pesquisador de Manguinhos, futuro director do Instituto, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, que disse e escreveu textualmente: "Tenho toda a certeza de que o eminente sábio japonês responderá a todas as objecções que lhe têm sido feitas. Pessoalmente, estou absolutamente

convencido da exactidão dos trabalhos de NOGUCHI que, com uma técnica irrepreensível e meios de cultura apropriados, tem isolado a *Leptospira icteroides* em todos os focos da moléstia em que tem trabalhado, o que aqui na Bahia também aconteceu, obtendo ele o sucesso esperado trabalhando com os eminentes colegas Drs. VIANNA e BIÃO..." Essa crítica era uma profissão de fé e mostra até que ponto as nossas pesquisas, e de outros técnicos de Manguinhos, contrariavam o que parecia firmemente estabelecido sobre a etiologia da febre amarela.

No estrangeiro, entretanto, a nossa comunicação (publicada na *Folha Médica*, Janeiro de 1928) despertou a atenção de diversos investigadores e foi objecto de comentários em várias publicações periódicas. Assim, na Itália, o jornal *Riforma Medica*, de Nápoles (Abril de 1928, Ano 44, N.º 16, pp. 462-465), fez extensas referências, antes quase completa transcrição do texto da nossa publicação. Também na *Presse Médicale* (8 de Agosto de 1928, N.º 63), já então quando começavam a ser conhecidos os resultados das pesquisas de STOKES, BAUER e HUDSON (publicadas, pela primeira vez, em Março de 1928, dois meses depois de ter vindo a público o nosso trabalho, o que teve lugar em Janeiro do mesmo ano), fez A. RAVINA igualmente extensas considerações em torno dos nossos estudos. Desses comentários transcrevemos um pequeno trecho que documenta o que acima referimos. Depois de historiar as pesquisas de NOGUCHI e seus colaboradores, diz RAVINA: "Mais après ces premières recherches, un grand nombre de travaux de contrôle institués dans de nombreux pays et particulièrement au Brésil n'ont donné que des résultats négatifs. Pratiquement, aucun auteur n'a pu, depuis longtemps, reproduire les expériences principales de NOGUCHI. Avec le temps, les critiques se sont faites de plus en plus vives et les objections apportées à la thèse du bactériologiste japonais paraissent maintenant devoir l'infirmer de manière complète. Nous rappelerons brièvement les principales de ces critiques. DA FONSECA a d'abord fait remarquer que la présence du virus dans le sang des malades ne s'observe guère que jusqu'à la fin du troisième jour. Or, les malades étudiés à Guayaquil, et dont le sang avait infecté le cobaye se trouvaient à une période beaucoup plus avancée de l'infection, ce qui paraît déjà extraordinaire. DA FONSECA, DA CUNHA et DE FIGUEIREDO ont cherché chez 80 malades atteints de fièvre jaune soit à isoler le leptospire, soit à transmettre l'infection au cobaye, soit même à trouver les éléments d'une réaction de Pfeiffer positive. Tous leurs examens furent négatifs".

Durante nossas pesquisas sobre febre amarela na Bahia, mantínhamos seguida correspondência com ADOLPHO LUTZ, cooperando nos trabalhos que esse nosso mestre vinha então realizando sobre a evolução dos esquistossomos e de outros trematódeos. Essa cooperação consistia em colher e enviar para o Rio de Janeiro moluscos (fisas, ampulárias e planorbídeos, principalmente) mas também batráquios, ofídios e outros animais que poderiam representar um papel no ciclo evolutivo daqueles helmintos. No decurso da correspondência, porém, o assunto por vezes se voltava para a febre amarela, que LUTZ tanto tinha estudado quando, em São Paulo, dirigia o Instituto Bacteriológico que hoje tem o seu nome. E então, recebíamos nós palavras de estímulo e de consolo, por não encontrarmos os leptospiras. Alguns trechos dessa correspondência passamos a transcrever, conservada a peculiar redacção do grande tropicalista.

Em 10 de Agosto de 1919: "17 resultados negativos nos três primeiros dias da moléstia parecem já um número suficiente para se tirar conclusões. Sirva-lhe de consolação que fiz cerca de 60 autópsias bacteriológicas, poucas horas depois da morte de febre amarela, sem obter resultado digno de ser publicado, a menos que se queira contar os resultados negativos como tais".

Em 21 de Março de 1920: "Desejo que tenha sido bem sucedido em seus esforços. Parece que NOGUCHI ultimamente também se ocupou com o problema das estegomias, onde talvez o germe podia ser encontrado com maior facilidade, quando são infectadas artificialmente, ou transmitindo a animais de experiência".

Em 18 de Abril de 1920: "Consta que há febre amarela no México e que o NOGUCHI já foi para lá continuar os seus estudos".

Nas cartas que então com muita frequência nos dirigia, não raro seguiam-se, na linguagem que lhe era própria, informações sobre o tempo (a meteorologia foi sempre uma das preocupações de LUTZ): "Ultimamente tem feito bastante frio. O HERACLIDES [DE SOUZA-ARAUJO], que chegou há poucos dias, disse que em Curitiba a temperatura caiu a quatro *degráus* abaixo de zero. Em Belo Horizonte chegou a um acima. Aqui o mínimo foi muito mais, talvez dez *degráus*, mas o efeito foi o mesmo". E, guardando os velhos hábitos de cortezia que nunca perdeu, em suas cartas despedia-se deste seu discípulo, subscrevendo-se com a protocolar fórmula germânica das *saudações colegiais*.

E sabe-se como terminou toda essa polêmica em que os pesquisadores de Manguinhos acabaram levando a melhor: com a morte, dizem alguns o

suicídio, de NOGUCHI, em Lagos, na Nigéria, onde acompanhava os trabalhos da missão americana constituída por ADRIAN STOKES, JOHANNES H. BAUER e N. PAUL HUDSON. Assim, definitivamente se encerrou o episódio do *Leptospira icteroides*, com a publicação do artigo daqueles três pesquisadores sobre a transmissão da febre amarela aos animais de laboratório. A tragédia, porém, não parou aí, com o desaparecimento de NOGUCHI, pois, antes mesmo de vir a público o trabalho dos autores mencionados, morria um deles, STOKES, vítima da febre amarela.

Vale a pena ainda recordar que, durante algum tempo, acompanhou nossos trabalhos na Bahia, um destacado médico equatoriano, o Doutor WENCESLAU PAREJA, que dirigia em Guaiaquil o hospital em que NOGUCHI realizara seus estudos sobre a febre amarela.

Como explicar os resultados a que chegara NOGUCHI? STRONG admitiu que os casos estudados em Guaiaquil não fossem de febre amarela e, sim, de doença de Weil, a leptospirose íctero-hemorrágica. E os casos da Bahia? Estes eram sem dúvida de febre amarela. Pensamos antes que, por onde andava, ia levando NOGUCHI seus animais de experiência, estes vindo já contaminados com o *Leptospira íctero-hemorrhagiae* com que o pesquisador japonês trabalhava em seus laboratórios do Instituto Rockefeller de Nova York. Não admira que de animais infectados isolasse ele o *Leptospira*. Outros resultados positivos se deviam sem dúvida a um esforço de imaginação, dele e também de seus colaboradores brasileiros...

Deste episódio da história da medicina brasileira se podem tirar muitos ensinamentos, o principal deles sendo que um dos bons serviços prestados ao Brasil por OSWALDO CRUZ foi o de incutir no espírito de seus discípulos a confiança em suas próprias realizações e o de dar-lhes a independência intelectual que lhes permitiu resistir à imposição de concepções contrárias aos factos por eles observados e aos resultados de suas próprias experiências, ainda que partissem tais concepções de personalidades de reconhecida autoridade na matéria.

Na Bahia, ao mesmo tempo que nos ocupávamos dessas pesquisas sobre a etiologia da febre amarela e sobre o papel que nessa enfermidade estaria por acaso representando o *Leptospira icteroides* de NOGUCHI, a convite de CLEMENTINO FRAGA e como Inspector na Comissão por esse ilustre professor chefiada, de intervenção sanitária para combate à febre amarela, tomávamos parte activa nos trabalhos, tendo sob nossas ordens quatro outros médicos sub-inspectores e várias dezenas de guardas e auxiliares necessários aos trabalhos de profilaxia. Estes constavam então de medidas de três ordens. Pela *vigilância sanitária*, destinada a descobrir casos novos que pudessem surgir, se mantinha contacto diário, por um número de dias correspondente ao prazo de incubação da febre amarela, com os casos notificados como suspeitos, os quais eram isolados a domicílio ou no Hospital de Isolamento localizado no bairro de Monte-Serrate, bem como com os respectivos comunicantes e com os viajantes aportados por mar e vindos de outros portos do país. A *polícia de focos*, que é destinada à destruição dos mosquitos em sua fase larvária e feita pela eliminação dos depósitos de água em que eles se possam desenvolver ou por seu isolamento ou petrolização, era na Bahia de cinquenta anos atrás muito dificultada. De um lado, a deficiência de distribuição de água encanada em certos bairros da cidade obrigava a população ao uso de numerosos depósitos, casarões havendo na chamada "cidade baixa" em que se encontrava mais de uma centena de "purrões", isto é, de grandes vasos de barro, de cerca de um metro de altura, o conteúdo de cada um dos quais tinha que ser examinado à procura de larvas com auxílio de uma lanterna eléctrica. De outro lado, era muito espalhado o uso de "cacos", que são recipientes anulares de barro, com um sulco circular contendo água, colocados em torno de plantas de jardim para protegê-las contra os ataques das formigas. Na época, recenseamos na cidade da Bahia mais de 300 mil "cacos". Hoje, em vários pontos do Brasil, os vemos substituídos por velhos pneumáticos de automóvel, cortados ao meio, perpendicularmente ao seu eixo. Estes modernos "cacos", como, aliás, de um modo geral os velhos pneumáticos abandonados, constituem outros tantos e perigosos focos de larvas de mosquitos, cada vez mais difíceis de se eliminarem.

De todos os serviços de profilaxia, porém, os mais espectaculares eram os de *expurgo*, quando, numa área de duzentos metros de raio em torno das casas em que ocorria um caso, confirmado ou suspeito de febre amarela, partindo da periferia para o centro, se cobriam inteiramente os telhados e às vezes os edifícios inteiros, com tela de algodão, se fechavam as portas e janelas, todas as frestas sendo obturadas com papel colado para impedir a saída de mosquitos. Fazia-se então retirarem-se todos os moradores e seus animais domésticos, para depois se queimar o enxofre que mataria os estegomias adultos, cujas fêmeas, sugadoras de sangue, possivelmente infectadas, eram potenciais trans-

missoras da doença. Tudo isso tinha que ser feito rapidamente e com um mínimo de movimentação para não afugentar os mosquitos que, se infectados, espalhariam a doença pelos arredores. A operação atraia sempre uma multidão de curiosos, razão pela qual no princípio da epidemia de 1928, no Rio de Janeiro, se evitou adoptá-la para não alarmar a população, o que, como se sabe, foi medida contraproducente. Pode-se bem imaginar o que foi o expurgo de alguns dos enormes edifícios da Bahia, como esforço humano e como dispêndio de material. Nesse sentido, acreditamos que em parte alguma foi superado o que se fez no Convento da Lapa e, em menor escala, no Teatro Politeama, edificações que foram cobertas por muitos milhares de metros quadrados de pano e assim tiveram obturadas todas as suas comunicações com o exterior, de modo a que por elas não pudesse passar mosquito algum. A técnica moderna simplificou muito estas coisas e a flitagem com bombas possantes, que se passou a utilizar em 1928 no Rio de Janeiro, substituiu os vetustos métodos de expurgo adoptados no princípio do século. Esse progresso não se fez, porém, sem o preço de vidas que se perderam nos primeiros ensaios mal sucedidos dos novos métodos de combate ao *Stegomyia aegypti*, único transmissor urbano conhecido da febre amarela.

De todas essas medidas, a mais importante, entretanto, era e é a polícia de focos, as práticas ultimamente ensaiadas de combater os mosquitos adultos rociando ou borrifando insecticidas ao longo dos logradouros públicos sendo, não somente de todo ineficazes, como altamente nocivas à saúde das populações pela poluição atmosférica que provocam e que indiscriminadamente atinge todos os habitantes das áreas tratadas, o que as torna de todo condenáveis.

Sobre o serviço de polícia de focos na Bahia, há um depoimento do chefe da Comissão Sanitária, o ilustre Prof. CLEMENTINO FRAGA a que vale a pena fazer referência para mostrar quais já eram os resultados colhidos, quando o Governo Federal resolveu entregar todo o serviço de profilaxia da febre amarela e de erradicação do *Stegomyia aegypti* à Fundação Rockefeller em cooperação com as autoridades brasileiras. O ilustre higienista J. P. FONTENELLE, no artigo que escreveu sobre "Higiene e Saúde Pública", para o *Dicionário Histórico, Geográfico e Etnográfico do Brasil* (v. I, pág. 439), assim se exprimiu:

"Um ano depois de começada a acção simultânea contra a febre amarela, em diferentes Estados, e achando-se no Rio de Janeiro o Dr. CLEMENTINO FRAGA, então director do serviço na Bahia, aproveitou-se ele da circunstância de tomar a palavra na Academia Nacional de Medicina, de que é membro correspondente, para comentar a campanha anti-amarílica naquele Estado, o que representa valiosíssima contribuição para julgamento do resultado final do grande tentame. "Baseando-me no trabalho do Dr. OLYMPIO DA FONSECA, filho", disse o Dr. FRAGA, na sessão de 5 de Agosto de 1920, "posso informar que o índice culicidiano foi baixando pouco a pouco, até que, quando deixei a Bahia, estava em dois e uma fracção. Foi o máximo que pudemos conseguir até agora. É possível que alguns focos tenham passado despercebidos, mas apuramos o índice culicidiano geral e, portanto, quer dizer, que o índice de Stegomyia deve estar um pouco mais baixo do que isso".

A PANDEMIA DE GRIPE DE 1918 E AS PRIMEIRAS DEMONSTRAÇÕES DA FILTRABILIDADE DO RESPECTIVO VÍRUS

Inaugurando o novo edifício da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, na Praia Vermelha, realizava-se em Outubro de 1918 um Congresso Nacional de Medicina, em conjunto com a II Conferência Sul-Americana de Higiene, Microbiologia e Patologia. Tendo nós comparecido à I Conferência, que se reunira em Buenos Aires em 1916, fomos indicado para secretariar a segunda, nessa qualidade acompanhando todos os trabalhos. A sessão inaugural, realizada num domingo no Teatro Municipal, foi concorridíssima, embora a ela, por motivo de doença, tivessem faltado alguns congressistas. A sessão de trabalho na segunda-feira decorreu normalmente, mas já na terça-feira eram muitos os membros dos conclaves a não comparecerem por estarem doentes, eles ou pessoas de suas famílias. A partir da quarta-feira, frente a uma situação que se revelava grave, o Congresso e a Conferência estavam praticamente dissolvidos. Todos os médicos, inclusive os estrangeiros, argentinos, uruguaios, peruanos e outros, que concorreram às reuniões, não bastavam para atenderem aos doentes, quando não estavam eles próprios já atingidos pela infecção. É que o Brasil fora alcançado

pela grande pandemia de gripe que invadira a Europa e que, por ter assolado inicial ou mais gravemente a Espanha, aqui recebera do povo a denominação de "a espanhola".

Sobre o Rio de Janeiro desabou ela como uma catástrofe, em poucos dias fazendo milhares de vítimas: uma das estimativas é a que calcula em vinte e cinco mil o número de mortos só na cidade do Rio de Janeiro. Se a tanto montou esse número ou se ele foi ultrapassado, ninguém sabe e ninguém poderá averiguar. A verdade é que nos hospitais improvisados, a mortandade era enorme. No que se chamou por algumas semanas "Hospital Deodoro", instalado na escola do mesmo nome, na rua da Glória, e onde durante alguns dias trabalhamos, juntavam-se pela manhã os corpos dos mortos da noite, e dias havia em que, num pequeno terraço dos fundos do prédio, eles se amontoavam até quase dois metros de altura.

Os serviços de transporte e de abastecimento quase completamente paralisados, cadáveres abandonados nas ruas por não mais poderem ser conservados em casa, os mortos sendo enterrados sem serem identificados e sem quaisquer outras formalidades, tudo isso evocava a situação das cidades do Velho Mundo, assoladas pela peste negra durante a Idade Média e a Renascença. Isso explica porque não faltou quem pensasse estar ocorrendo justamente essa eventualidade e quem aventasse a hipótese de se tratar da peste em sua forma pulmonar, de tão fácil e rápida propagação.

Mas, os médicos mais antigos, e isso vimos em nossa casa, que já tinham assistido à pandemia de 1893, a qual, entretanto, fora muito menos grave, desde logo reconheceram, no mal que tão celeremente se espalhava, a mesma influenza pandêmica que, como uma onda, periodicamente se estende por todo o mundo civilizado, antes de atingir as regiões mais remotas e chegar aos mais ínvios sertões.

Entretanto, apesar dessa convicção dos melhores e mais experimentados clínicos, era preciso firmar o diagnóstico, baseá-lo em dados bacteriológicos e anátomo-patológicos concretos.

Encarregado por CARLOS CHAGAS (pai), então director do Instituto Oswaldo Cruz e a quem fora entregue pelo governo federal a tarefa de organizar os serviços de assistência médica de emergência à população, fomos buscar em sua residência de Botafogo, onde também convalescia de gripe, o patologista americano BOWMAN C. CROWELL, recém-chegado ao Brasil para onde viera a fim de organizar e chefiar a divisão de anatomia patológica do Instituto Oswaldo Cruz. Imediatamente, juntos nos dirigimos ao pavilhão de necrópsias do Instituto Oswaldo Cruz, anexo ao Hospital da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro, onde CROWELL, por nós auxiliado, realizou as primeiras investigações *post-mortem* da doença que grassava. Logo depois, restabelecidos eles também, começaram nos dias seguintes a se apresentar os outros patologistas de Manguinhos que, com CROWELL, continuaram a tarefa. Depois de alguns dias de trabalho no "Hospital Deodoro" passamos então nós, ainda por designação de CHAGAS, a assegurar no Instituto o andamento de certos serviços que não podiam ser interrompidos. Éramos nesses dias talvez dois ou três técnicos, que lá resistiam à doença ou dela se tinham recuperado, e aos quais se veio juntar como voluntário uma prestigiosa personalidade estrangeira, grande amigo do Brasil onde como ministro plenipotenciário (naquele tempo no Brasil só havia dois embaixadores, o de Portugal e o dos Estados Unidos) representara o seu país, o ilustre médico uruguaio SUSVIELLA GUARSCH.

Estava melhorando a situação, quando fomos visitar ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, ainda convalescente da gripe, em sua casa da rua Ipiranga, nas Laranjeiras. Manifestou-se MARQUES DA CUNHA pela necessidade de se proceder a estudos sobre a verdadeira etiologia da doença, já que o papel representado pelo bacilo de Pfeiffer, geralmente considerado como seu agente produtor, nos parecia muito duvidoso.

Acordamos então nós dois em dar andamento a esses estudos. Mas, já então, a epidemia rapidamente declinara e eram menos numerosos os casos de gripe. Esta já acometera praticamente todas as pessoas sensíveis à doença e casos de infecção recente quase não mais se encontravam. Foi preciso procurá-los entre os marinheiros de navios recém-surtos no porto do Rio de Janeiro e entre os soldados que, vindos do interior do país onde ainda não grassava a gripe, adoeciam e eram recolhidos ao Hospital Central do Exército.

Estando no Rio de Janeiro, para assistir aos congressos de medicina que então aqui se realizavam, OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES, já então destacado experimentador de Manguinhos, que trabalhava na filial do Instituto em Belo Horizonte, propôs-se ele ou lhe propusemos nós, não mais nos lembramos, que fosse também nosso colaborador, uma vez que, na capital de Minas Gerais, era ainda tempo de se observarem casos recentes de gripe.

A esse empreendimento tentamos também associar EZEQUIEL DIAS, ilustre director daquela filial que passara a ter o seu nome, Instituto Ezequiel Dias. Excusou-se ele de compartilhar da responsabilidade no nosso trabalho, da correspondência entre nós trocada transparecendo que aquele nosso

colega, como quase todos os microbiologistas da época, continuava a admitir o papel etiológico do *Haemophilus influenzae*, o então famoso bacilo de Pfeiffer, na produção da gripe. Aliás é o que, em carta datada de Janeiro de 1919, nos comunica OCTAVIO DE MAGALHÃES:

"Acentuo bem estes factos, porque o EZEQUIEL não comunga, infelizmente, no nosso credo, e aplaude com fervor o Pfeiffer como agente etiológico da influenza pandêmica".

Ao contrário, convencidos da inocuidade do bacilo de Pfeiffer, MARQUES DA CUNHA e OCTAVIO DE MAGALHÃES não hesitaram em inoculá-lo *in anima nobile*, os dois voluntários inoculados nenhum sinal de gripe tendo apresentado. E a cultura inoculada havia sido antes bem estudada de modo a ter garantida sua identificação.

Os estudos sobre a etiologia da influenza pandêmica de 1918-1919 foram por isso restringidos em Manguinhos a ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, OCTAVIO DE MAGALHÃES e nós. Ignorávamos então totalmente as pesquisas que vinham sendo realizadas na França por CHARLES NICOLLE e LEBAILLY e por VIOLLE, bem como as de SELTER e, no Japão, as de YAMANUCHI e seus colaboradores. Assim, se simultaneamente chegamos aos mesmos resultados que aqueles outros investigadores, o fizemos de modo inteiramente independente das pesquisas que eles realizavam e que ainda não tinham sido publicadas.

Esses estudos mostraram que os filtrados de sangue e de escarro dos doentes com infecção gripal recente provocavam em animais de laboratório reacções febrís que não eram obtidas com material análogo de outras proveniências. Os nossos resultados foram postos em dúvida no Brasil e, até pouco tempo, não mencionados na literatura médica internacional, para isso concorrendo a noção errônea de que a gripe só podia ser transmitida a uma única espécie de animal de experimentação, o furão (*Mustella furo*), que SMITH, ANDREWES e LAIDLAW, em 1933, demonstraram ser sensível à infecção. Mas esses mesmos autores logo depois conseguiram obter a adaptação do vírus gripal ao camundongo, em que a infecção é muitas vezes inaparente, e hoje se sabe que o porco, o coelho e certos macacos também podem ser infectados. Tais resultados vieram comprovar os que MARQUES DA CUNHA, OCTAVIO DE MAGALHÃES e nós, bem como os autores franceses e japoneses acima citados, obtivéramos já em 1918, o que P. LÉPINE, o ilustre virologista do Instituto Pasteur, desde 1950 reconheceu, escrevendo: "La grande pandémie de 1918-1919 permet de mettre en évidence dans les produits contagieux l'existence d'un virus filtrable (SELTER, 1918) transmissible au singe (*Macacus cynomolgus* et *sinicus* (CH. NICOLLE et LEBAILLY, 1918), résultats retrouvés independamment à la même époque au Brésil (DA CUNHA, DE MAGALHÃES et DA FONSECA) et au Japon (YAMANOUCHI et coll.)". Tais resultados foram obtidos quando em matéria de etiologia da gripe só se falava no bacilo de Pfeiffer, em cujo papel etiológico ainda por vários anos quase todos os microbiologistas acreditavam.

Escrevendo em 1953 a respeito dos trabalhos realizados de 1918 a 1920 em Manguinhos sobre a etiologia viral da gripe, pôde ARAGÃO afirmar:

"Trabalhou-se então intensamente horas a fio, sem descanso, resultando desses porfiados estudos novos rumos para o problema da etiologia da gripe, pois ficou claro que o bacilo de Pfeiffer não era senão um germe de associação secundária na evolução do mal e apontada a sua natureza de moléstia produzida por vírus, depois amplamente confirmada em outros laboratórios nacionais e estrangeiros".

TRABALHOS SOBRE O VÍRUS DA GRIPE REALIZADOS EM MANGUINHOS APÓS A PANDEMIA DE 1918/1919

Durante um surto epidêmico de gripe, em 1945, no Rio de Janeiro, JOSÉ GUILHERME LACORTE, com a colaboração de ESTÁCIO MONTEIRO e JOAQUIM DE CARVALHO LOURES, isolaram o vírus da gripe e passaram a conservá-lo em laboratório, repetindo esse isolamento durante as epidemias de 1949, 1951, 1957 e 1968/69. A partir dessas amostras assim isoladas e utilizando o líquido alantóide de embriões de galinha inoculados, prepararam uma vacina que foi largamente utilizada e puderam realizar vários trabalhos sobre a hemaglutinação por eles provocada, sua acção patogênica e sensibilidade a diversos agentes físicos e químicos. Um resultado interessante desses estudos foi também a verificação no camundongo e no coelho da transmissão congênita do vírus da gripe, com ou sem alterações do desenvolvimento fetal, a partir de infecção inaparente no organismo materno. Os mesmos autores verificaram (primeira comprovação feita até hoje nesse sentido) que os raios X em doses moderadas provocam exacerbação do poder patogênico para o camundongo. Essa observação leva a pensar que as alterações comumente observadas de virulência em epidemias diferentes de gripe, possam ser devi-

das à irradiação, quer natural quer artificial (por exemplo, emprego dos raios X em indivíduos portadores de infecção gripal). Também foi verificado, pelos mesmos pesquisadores de Manguinhos, que o processo habitualmente empregado de dosar a vacina antigripal pelo seu poder hemaglutinante não permite ajuizar de seu poder antigênico ou vacinante, este constantemente persistindo quando baixou e quase desapareceu o poder aglutinante.

A BARTONELOSE NEOTRÓPICA OU DOENÇA DE CARRIÓN

De dois modos contribuiram os pesquisadores de Manguinhos para o conhecimento da bartonelose neotrópica, entidade mórbida mais conhecida pelos nomes de verruga peruana, febre de Oroya ou doença de Carrión.

Durante nossa expedição ao Oriente da Bolívia, em 1924 e 1925, fomos encontrar um foco dessa doença a oeste do Chaco Boliviano, nas serranias de Santiago de Chiquitos, onde são frequentes os casos, apesar de ser esparsa e escassa a população. A doença é bem conhecida dos habitantes e por eles atribuída ao envenenamento pelo mel de uma abelha lá denominada *itchú*. Trata-se de região de flebótomos do mesmo modo que no vale de Oroya. Até essa nossa verificação, que consta da publicação que fizemos do nosso "Diário de viagem" nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (t. XXII, fasc. 1, 1929), supunha-se que a bartonelose neotrópica fosse doença de distribuição geográfica limitada ao vale de Oroya, — a algumas centenas de quilômetros de Lima. Depois de a termos encontrado no Oriente da Bolívia, casos foram registados em outros países da região andina. O facto de se verificar a bartonelose neotrópica em condições de endemia em áreas de escassa população humana, leva a suspeitar que se trate de uma zoonose e que reservatórios do virus ou animais sensíveis à infecção se encontrem na fauna silvestre regional, quer representados por vertebrados, quer pelos próprios insectos transmissores.

Partindo de culturas de *Bartonella bacilliformis*, isoladas por BATTISTINI no Peru e que lhes foram enviadas por HIDEYO NOGUCHI, dois pesquisadores de Manguinhos, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ, empreenderam sobre a doença estudos experimentais visando sobretudo "verificar a significação e as relações existentes entre as inclusões descritas por MAYER, ROCHA-LIMA e WERNER na verruga e a *Bartonella bacilliformis*". MARQUES DA CUNHA e MUNIZ conseguiram reproduzir experimentalmente aquelas inclusões e mostrar que elas nada mais representam, provavelmente, que aglomerados do microrganismo inoculado e, portanto, sem dúvida alguma, formas de multiplicação da *Bartonella*. Esses estudos de MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ levaram à conclusão de que "um gérmen perfeitamente cultivável, em meios em que não existem células vivas, é capaz de dar lugar à formação de inclusões semelhantes às encontradas nas moléstias produzidas por clamidozoários".

PROTOZOOLOGIA

Além das pesquisas de que tratamos em outras partes do presente escrito, relativas a determinadas doenças produzidas por protozoários, foram numerosos os trabalhos realizados em Manguinhos sobre os mais diversos grupos de protozoários, quer parasitos quer de vida livre. E' de tal modo amplo e compreensivo o campo desses estudos que, com justiça e sem exagero, se pode falar em uma escola brasileira de protozoologia, nascida e desenvolvida no Instituto Oswaldo Cruz. Sem contestação possível, foram iniciadores dessa escola CARLOS CHAGAS e HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, que, com suas grandes descobertas, o primeiro a da tripanossomose americana que hoje tem o seu nome, e o segundo com a do ciclo exo-eritrocitário dos hemosporídeos representados pelo *Haemoproteus columbae*, deram brilhante partida aos estudos protozoológicos subsequentes. Mais tarde, anos mais tarde, a presença de dois ilustres biólogos e protozoologistas alemães, MAX HARTMANN e STANISLAS VON PROWAZEK, veio trazer a inapreciável contribuição e a irresistível influência da escola citológica e protozoológica de SCHAUDINN, aureolada pelo prestígio de brilhantes descobertas, mas com

o brilho por vezes, e até certo ponto, empanado pela predominância de hipóteses de trabalho que, à força de repetidamente utilizadas, acabavam se impondo como se foram factos comprovados. Se, nos meios médicos, é SCHAUDINN conhecido e justamente respeitado, sobretudo pela descoberta com HOFFMANN do *Treponema pallidum* e pelo esclarecimento da etiologia da sífilis, entre os biólogos e protozoologistas é ele admirado como o investigador que esclareceu muitas dúvidas e resolveu muitos problemas relativos à estrutura íntima, ao modo de desenvolvimento e ao ciclo evolutivo de protozoários de diferentes grupos. Isso, entretanto, não impede que, com a perspectiva da distância e o recuo no tempo, se venha a reconhecer a preponderância das concepções teóricas que, mesclada aos factos positivos, tanto veio a influenciar a maioria dos pesquisadores de Manguinhos, alguns dos quais se deixaram por elas arrastar, sendo levados a erros, não de observação, mas de interpretação, que depois foram forçados a corrigir. Essa ascendência das concepções teóricas bem se reflecte na *boutade* de PROWAZEK que por muito tempo se repetiu e ficou célebre em Manguinhos: "Muitos preparados significam poucas idéias". Muitas vezes as idéias eram acertadas e até luminosas. Outras, porém, não o eram tanto e algumas desviavam completamente o pesquisador da realidade. Entre essas idéias, que o tempo se encarregou de afastar, estavam: o conceito de binucleados, para compreender os tripanossomídeos, cujo cinetoplasto era considerado um segundo núcleo de função locomotora, no qual a boa vontade e a fantasia de alguns observadores (ROSENBUSCH foi um destes) por vezes distinguiram figuras de mitose; a correlata doutrina que considerava tripanossomas e hemosporídios, não como grupos diferentes de protozoários, mas como fases da evolução dos mesmos parasitos; a concepção de centríolo, como uma organela situada no centro do cariossoma e representando o centro cinético do núcleo; as variações cíclicas do cariossoma, aspectos ocasionais que essa organela dos núcleos vesiculosos reveste e que eram erroneamente interpretados como cíclicas; a suposta sexualidade de muitos protozoários que, como os tripanossomas, nunca a possuiram e que só por analogia lhes era atribuída. Tudo isso, com a dose de influência doutrinária que comportava, se encontra em certa época em vários dos trabalhos dos protozoologistas de Manguinhos, inclusive também nos nossos: pecados da juventude de um ramo de ciência, a citologia dos protozoários, que, no princípio do século, começava apenas a se firmar e dava os primeiros passos, erros também de juventude do próprio SCHAUDINN que desapareceu para sempre pouco depois dos trinta anos de idade, e da maioria dos seus discípulos de então, na Alemanha como no Brasil.

Mas esses erros não impedem que se tenha que reconhecer em SCHAUDINN um dos maiores protozoologistas de seu tempo e em MAX HARTMANN e STANILAS VON PROWAZEK seus dignos continuadores, que prestaram a Manguinhos o inestimável serviço de abrirem os olhos de vários de seus pesquisadores para novos sectores da protozoologia até então não abordados entre nós.

Um desses campos que PROWAZEK auxiliou os nossos protozoologistas a explorar foi o dos protozoários de vida livre, que, se não interessam directamente à medicina, têm uma grande importância sob o ponto de vista da biologia geral. Nesse terreno trabalharam primeiro HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, e, depois, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA. A MARQUES DA CUNHA se deve um aprofundado estudo da fauna brasileira de protozoários da água doce, de que classificou centenas de espécies, muitas delas consideradas novas, estas principalmente incluídas entre as euglenoídeas. Quanto às espécies marinhas de protozoários, foram elas objecto de estudos primeiramente de GOMES DE FARIA e MARQUES DA CUNHA, que realizaram entre nós também os estudos iniciais sistemáticos sobre o plancton, descrevendo numerosas espécies de algas e de protozoários desse tipo de associação biológica. A esses estudos nos associamos com MARQUES DA CUNHA para determinar as espécies do microplancton de Mar Del Plata, mais tarde estudando também as que ocorrem em todo o litoral brasileiro ao sul de Pernambuco.

Muitas espécies dentre esses protozoários de vida livre foram objecto de estudo citológico por vários pesquisadores de Manguinhos: *Polytomella agilis*, flagelado de novo gênero e nova espécie, foi sob esse ponto de vista muito bem estudado por ARAGÃO, que também descreveu a divisão nuclear de outra nova espécie, a *Amoeba diplomitotica*. HARTMANN e CHAGAS fizeram interessantíssimos estudos sobre a citologia dos flagelados, dela tirando conclusões de alcance geral para a classificação desses protozoários, além de terem descrito o processo de divisão nuclear da *Amoeba hyalina* de DANGEARD. CHAGAS demonstrou a sexualidade de *Bodo caudatus* (que ele e HARTMANN tinham classificado com o nome de *Prowazekia Cruzi*), patenteando que ela se traduz por um processo de anisohologamia.

Naturalmente, maior atenção receberam em Manguinhos as espécies de protozoários parasitos, de alguns grupos dos quais foram publicados muitos trabalhos e extensas monografias.

Assim, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA tornou-se autoridade reconhecida em tudo o que se referia a ciliados, particularmente aos oligótricos encontrados no rumen de bovinos e balantídios do ceco de equinos e de primatas. Sobre estes últimos, com JULIO MUNIZ, publicou MARQUES DA CUNHA importante memória relativa ao processo de reprodução sexuada por endomixis em um balantídio parasito dos "rhesus". Trata-se de um modo de rejuvenescimento ou renovação nuclear, resquício de uma sexualidade em que desaparece a fecundação como resultante de uma regressão do processo sexual de reprodução.

Durante alguns anos, a princípio sob a orientação de MARQUES DA CUNHA, nos dedicamos aos estudos dos flagelados parasitos das cavidades naturais dos mamais. Desses nossos estudos resultou a descrição de vários novos gêneros e espécies, dentre os quais um novo parasito intestinal do Homem, que denominamos *Enteromonas hominis*. Na época, esses trabalhos sobre flagelados tiveram bastante repercussão na literatura médica e protozoológica internacional, citados daí por diante nos tratados da especialidade, sendo alguns de seus tópicos objecto de larga discussão. Ficou comprovado que o *Enteromonas hominis* é um parasito cosmopolita, casos mais ou menos frequentes de infecção por esse flagelado tendo sido observados em vários países da Europa (em Granada, na Espanha, LOPES NEYRA o observou em mais de 4 por cento dos pacientes examinados), na Rússia, em Sumatra, no Japão, na Guiana, enfim em tôda a parte em que foi procurado.

CESAR PINTO, sob nossa orientação estudou as gregarinas. GUSTAVO HASSELMANN fez estudos sobre ciliados parasitos, estabelecendo o novo gênero *Cunhaia*, dedicado a MARQUES DA CUNHA, e sobre gregarinas.

GETH JANSEN fez interessantes observações sobre o *Trypanosoma equinum* e a epidemiologia do "mal de cadeiras" por esse parasito produzido e cuja anatomia patológica estudou em colaboração com MAGARINOS TORRES.

MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ estudaram os flagelados intestinais de aves e o *Endotrypanum*, tripanossomídeo endoglobular das preguiças, revelando muitos pormenores até então não conhecidos de sua biologia e evolução.

Em colaboração com MARQUES DA CUNHA, empreendemos o estudo dos mixosporídios do Brasil, de que em Mato Grosso colhemos outras espécies que foram descritas por JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO. MARQUES DA CUNHA e MAGARINOS TORRES descreveram de tatus um curiosíssimo esporozoário do gênero *Globidium*, cuja posição sistemática exacta é um problema até agora não resolvido.

Em missão do Instituto Oswaldo Cruz na República Argentina, GOMES DE FARIA e OSWALDO CRUZ FILHO realizaram demoradas pesquisas sobre a "tristeza dos bovídeos", do que resultou um conhecimento muito mais minucioso e preciso das babesioses e anaplasmoses. Os dois pesquisadores de Manguinhos obtiveram infecções puras por *Babesia* e por *Anaplasma* e puderam estabelecer clara distinção entre os anaplasmas e os corpúsculos de JOLLY com que eram aqueles por vezes confundidos.

Outros estudos isolados sobre protozoários foram feitos em Manguinhos por MAX HARTMANN, CARLOS CHAGAS, HENRIQUE ARAGÃO, ASTROGILDO MACHADO, OSCAR D'UTRA E SILVA, GILBERTO DE FREITAS e poucos mais.

Todo esse conjunto de pesquisas representa contribuição vultosa para a protozoologia, incluindo muitas observações interessantes e algumas de real importância médica e biológica.

UMA IMPORTANTE DESCOBERTA: O CICLO EVOLUTIVO DO HALTERÍDIO DO POMBO

Uma das mais importantes descobertas feitas em Manguinhos foi a realizada em 1906, por HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, do ciclo evolutivo do chamado halterídio do pombo, o *Haemoproteus columbae*. Até então se sabia que as formas endoglobulares desse parasito, que aparecem no interior das hemátias, são incapazes de reproduzir a infecção e de se desenvolverem em animais indemnes pela inoculação do sangue dos pombos infectados. Em 1897, em Baltimore, o depois famoso patologista WILLIAM G. MAC CALLUM pôde demonstrar que isso acontecia por serem tais formas endoglobulares gametócitos que, pela permanência entre lâmina e lamínula, numa gota de sangue, davam origem a gametos, os masculinos filiformes se fundindo com os femininos arredondados, chegando assim à formação de zigotos móveis ou oocinetos, cujo desenvolvimento prossegue numa mosca hematófaga ectoparasita do pombo, a *Lynchia maura*. Mas, nada se sabia da fase assexuada da repro-

dução. Essa foi descoberta por ARAGÃO, e ocorre não nas hemátias em que inutilmente se havia procurado encontrá-la, mas, sim, por esquizogonia, nas células do endotélio pulmonar do pombo. Era a primeira demonstração de ocorrência de uma fase exo-eritrocitária de hemosporídio, estabelecendo-se assim uma noção nova, um novo conceito de ciclo evolutivo para esse grupo de protozoários, nova noção e novo conceito que, transpostos para o caso das malárias do Homem, seriam férteis em consequências.

A importância dessa descoberta não escapou aos protozoologistas e parasitologistas do mundo inteiro, e, mesmo muito antes da noção de ciclo exo-eritrocitário dos hemosporídios se estender aos parasitos das malárias, aos plasmódios, era o trabalho de ARAGÃO citado, se pode dizer, em todos os livros da especialidade e as figuras que o documentam em quase todos eles reproduzidas.

Um singelo episódio, que já várias vezes relatamos, bem ilustra a importância dada à descoberta de ARAGÃO, do ciclo exo-eritrocitário do *Haemoproteus*. Indo à Europa, em 1952, como sempre que lá vamos, fomos visitar o Instituto Tropical de Hamburgo, então dirigido pelo Prof. ERNST NAUCK. Nessa ocasião, o Prof. E. REICHENOW, decano dos protozologistas alemães, recordou-nos que, no laboratório de GOLDSCHMIDT, um dos fundadores da moderna genética, fora companheiro de ARAGÃO e que, entre os pesquisadores alemães que lá trabalhavam, comentava-se com admiração que ARAGÃO, tão jovem (isso acontecia no princípio do século), já fosse um cientista famoso: "Tão jovem e já famoso", repetia REICHENOW.

DOENÇA DE CHAGAS

A mais importante contribuição, trazida à patologia pelo Instituto Oswaldo Cruz, foi sem dúvida a descoberta da esquizotripanose ou tripanossomose americana, para a qual ANTONIO AUSTREGÉSILO propôs a denominação, logo em toda parte adoptada, de "moléstia de Carlos Chagas" ou, como com mais brevidade a designou MIGUEL COUTO, "moléstia de Chagas" ou, ainda, conforme hoje se prefere dizer, "doença de Chagas", do nome de seu descobridor CARLOS RIBEIRO JUSTINIANO DAS CHAGAS (CARLOS CHAGAS, pai).

Na conferência que, em 1915, pronunciou na Biblioteca Nacional do Rio de Janeiro, OSWALDO CRUZ com justeza assinalou ter sido essa descoberta "o mais belo exemplo do poder da lógica a serviço da ciência".

A DESCOBERTA

Em 1909, estava CARLOS CHAGAS, em companhia de BELISÁRIO PENNA (1), havia cerca de um ano, realizando trabalhos de combate à malária, por ocasião do prolongamento das linhas da Estrada de Ferro Central do Brasil, no norte de Minas Gerais, quando, na localidade de Lassance, onde tinha seu centro de trabalho, lhe foi trazido por um dos engenheiros da Estrada, um insecto hematófago que até então lhe passara despercebido. Tratava-se de um hemíptero heteróptero que frequentava as choupanas ou "cafuas", casas de taipa em que residia e reside ainda a grande maioria dos habitantes da região.

No primeiro trabalho (*Archiv fuer Schiffs-und Tropenhygiene*, 13 (11): 351-353) que escreveu sobre o assunto, atribui CHAGAS o nome vulgar de "barbeiro" dado aos triatomíneos, ao facto de sugarem eles de preferência o rosto de suas vítimas ("Diese Wanze saugt Blut, und zwar mit Vorliebe im Gesicht, weswegen sie beim Volke "Barbier" (Barbeiro) gennant wird"). Em 1910, dá outra explicação:

"Denominavam-no os naturais da zona "barbeiro", nome este cuja razão indutiva nos parece encontrada no facto de serem os barbeiros, especialmente no interior do país, incumbidos de praticar sangrias e aplicar sanguessugas, com objectivo terapêutico. Nessa função de sangradores dos barbeiros, encontrou o povo um símile aplicável às abundantes sucções de sangue realizadas pelo insecto, daí dando-lhe a denominação".

Como protozoologista que era, CHAGAS sabia que no tubo digestivo de diversos tipos de insectos não raro ocorrem protozoários flagelados do grupo dos tripanossomídeos (*Leptomonas, Crithidia, Herpetomonas*), os quais, quando parasitos de artrópodo

(1) À companhia desse seu colega, faz alusão CHAGAS em seu primeiro trabalho sobre a doença que descobrira e escreve: "Em nossas pesquisas temos sido vantajosamente acompanhado pelo Dr. BELISÁRIO PENNA, a quem deixamos aqui os mais sinceros agradecimentos".

hematófago, às vezes representam uma fase de desenvolvimento de algum tripanossoma de vertebrado. O exame microscópico do conteúdo intestinal do barbeiro confirmou logo essa suspeita, nele se encontrando em abundância formas de critídia que poderiam representar um parasito próprio de invertebrado, já tendo aí chegado ao termo de seu desenvolvimento, ou então ser apenas uma forma evolutiva de um tripanossomídeo de vertebrado. Nos estudos que vinha fazendo sobre protozoários parasitos de diferentes animais, anteriormente tinha CHAGAS descoberto, nos hapalídeos ou saguis capturados na região, uma nova espécie de tripanossoma que denominara *Trypanosoma minasense*, logo depois redescrito por ANTONIO CARINI que o encontrou em quase todos os saguis comprados no Rio de Janeiro. Seu primeiro pensamento foi, por isso, que talvez as critídias do intestino do barbeiro pudessem representar a forma evolutiva no invertebrado do *Trypanosoma minasense*. Mas, apurar esse facto com os saguis de Lassance não era possível, pela simples razão de já estarem eles todos infectados em condições naturais, nenhuma conclusão se podendo tirar das inoculações acaso praticadas. Esse foi o motivo pelo qual, por intermédio de BELISÁRIO PENNA, enviou CHAGAS os insectos a OSWALDO CRUZ, para que, em Manguinhos, os fizesse picar saguis que não estivessem naturalmente infectados. Foi o que se fez, dando a experiência o resultado positivo que já era esperado. Voltando CHAGAS ao Rio de Janeiro e examinando os saguis que OSWALDO CRUZ fizera picar pelos barbeiros, verificou logo dois factos. O primeiro é que o tripanossomídeo que aparecia no sangue daqueles animais não era o *Trypanosoma minasense*, dele bem se diferenciando pela morfologia própria. O outro é que um dos saguis infectados apresentava uma lesão ocular que CHAGAS qualificou de queratite. O novo tripanossomídeo transmitido pelo "barbeiro", CHAGAS o descreveu sob o nome de *Trypanosoma Cruzi*, sendo até então ele conhecido apenas sob a forma de um parasito de insecto experimentalmente transmitido a animais de laboratório.

É nos seguintes termos que, em 1910, CHAGAS refere esses factos: "Obtendo exemplares de *barbeiros*, no tubo intestinal deles encontramos um protozoário flagelado com as características morfológicas de critídias, o qual, ou poderia representar um parasita natural do insecto, ou seria uma fase evolutiva de um tripanossoma de vertebrado, dada a função hematófaga do *barbeiro*. Essa última hipótese, desde logo emitida, foi verificada no Instituto Oswaldo Cruz pelo seu director, a quem enviamos alguns *barbeiros* e que os fez picar um *Callithrix penicillata*, espécie de macaco, entre nós conhecida pelo nome de sagui. Este, no fim de alguns dias, mostrou no sangue periférico um tripanossoma, cujo estudo realizamos, chegando então a alguns resultados interessantes no ponto de vista exclusivo da protozoologia".

Verificada a importância do hemíptero em questão como transmissor de um tripanossomídeo, primeira vez que se registava o papel de representantes daquela ordem de insectos como veiculadores de parasitos de vertebrados, tratou-se de classificá-lo. A tarefa coube a ARTHUR NEIVA que o identificou à espécie descrita por BURMEISTER em 1835 sob o nome de *Conorrhinus megistus*, nome mais tarde corrigido, de acordo com as regras de nomenclatura zoológica, primeiro para *Triatoma megista*, depois para *Panstrongylus megistus*. Foi esse o ponto de partida dos estudos de NEIVA sobre todo um grupo de hemípteros hematófagos, que hoje constitui a tribo *Triatomini*, com cerca de uma centena de espécies.

Uma vez que se não tratava do *Trypanosoma minasense*, dos saguis de Lassance, punha-se logo a questão de saber qual seria, em condições naturais, o hospedador vertebrado do tripanossomídeo dos barbeiros. Sendo o protozoário parasito de um insecto hematófago colhido nas casas do Homem, desde logo se levantava a hipótese de ser tal hospedador vertebrado o Homem ou um animal doméstico.

Escreveu CHAGAS a esse respeito: "Levávamos, como idéia directriz, a noção de constituírem os domicílios humanos o *habitat* predilecto, se não exclusivo do hematófago, assim como o facto amplamente verificado, de ser o sangue humano a alimentação por excelência dele. Seria razoável pensar, daí, em uma condição infectuosa intradomiciliária e que o vertebrado hospedeiro do parasito fosse algum animal doméstico ou o próprio Homem".

Dirigiu então CHAGAS suas pesquisas nesse sentido e passou a examinar o sangue dos habitantes das cafuas e de seus animais domésticos. A primeira verificação positiva, fê-la CHAGAS num gato, logo depois encontrando o mesmo parasito numa criança febricitante, BERENICE, primeiro caso diagnosticado de doença de Chagas. Estava, pois, confirmado que o parasito do barbeiro, o então chamado *Trypanosoma Cruzi*, primeiro descrito a partir de uma infecção experimental de sagui, era um parasito do Homem.

Na conferência que em 1910 pronunciou na Academia Nacional de Medicina, acentua CHAGAS: "Como vedes, meus senhores, o estudo desta moléstia apresenta de curioso o facto de termos partido

aqui do conhecimento prévio do germe, de o havermos estudado minuciosamente em sua biologia, para mais tarde chegarmos, baseado de alguma forma nessa mesma biologia, à noção, praticamente a mais importante, de ser ele factor etiológico de uma espécie mórbida humana. No esclarecimento etiológico das outras espécies mórbidas, nada de similar encontramos; em todas elas, depois de profundamente estudada a moléstia, em sua sintomatologia, em suas condições epidemiológicas, tem-se chegado à verificação do agente mórbido. Foi o que se deu nos estudos da tripanossomíase africana, a moléstia do sono, no impaludismo, na febre recurrente, etc., moléstias todas de protozoários hemáticos".

A descoberta de CHAGAS antecedeu de alguns meses a de EMILE BRUMPT do *Trypanosoma Vickersae*, parasito de macacos asiáticos (*Macaca cynomolgus*) da Malásia e da Indonésia, encontrado depois por TERRY, que lhe deu o nome de *Trypanosoma rhesi*, no "rhesus" (*Macaca mulatta=Macacus rhesus*) da Índia, e por ETIENNE SERGENT em *Macacus sinicus* (?) do Extremo-Oriente. Em 1935, MALAMOS identificou a espécie de BRUMPT com o *Schizotrypanum Cruzi*. Essa surpreendente identificação, confirmada em experiências no Homem por H. GALLIARD e LUCIEN CH. BRUMPT, que inocularam voluntários cancerosos (conhecem-se as experiências russas de tratamento de câncer pela inoculação do *S. Cruzi*), veio levantar a questão da existência de doença de Chagas no Sudeste asiático.

Ao mesmo tempo que realizava essas pesquisas, que a princípio apareciam como de interesse puramente científico e especulativo — estudos sobre protozoários parasitos de insecto e sua transmissibilidade a animais de laboratório — antes de se verificar a infecção natural no Homem, como excelente clínico que era, vinha CHAGAS fazendo importantes observações sobre as doenças reinantes na área de Lassance e seus arredores. Além da malária, que era sua incumbência precípua combater, observou CHAGAS toda uma patologia regional que muito diferia da de outras regiões do Brasil: casos frequentes de manifestações cardíacas com fenômenos de arritmia (*baticum* e *avexame do coração*, no dizer popular) e, às vezes, de acentuadíssima bradicardia; eventualmente morte súbita de indivíduos moços, na terceira ou quarta década de vida; manifestações nervosas traduzidas por paraplegias, sobretudo diplegias; e, finalmente, o bócio e o cretinismo endêmicos. É evidente que casos isolados e esporádicos daqueles primeiros estados mórbidos se observam por toda parte e que o bócio e o cretinismo endêmicos já eram conhecidos em muitas regiões do Globo em que se não podia suspeitar ou admitir a existência de tripanossomose. Mas, o que impressionava a CHAGAS e ainda impressiona, a quem quer que visite certas partes do Brasil, é a frequência extraordinária daquelas manifestações cardíacas e nervosas. Nada de surpreendente, pois, antes muito de se esperar, que CHAGAS tivesse procurado relacionar a ocorrência daquela nosologia particular que observava com a tripanossomose até então desconhecida e cuja existência ele acabava de revelar.

A tripanossomose, que logo se mostrava extremamente espalhada nessas populações assim diversamente flageladas, parecia poder trazer uma explicação para todo esse inusitado quadro nosológico. Essa a primeira impressão.

A coincidência da hipertrofia da glândula tireóide e do cretinismo com a infecção pelo novo parasito encontrado, levou CHAGAS, em seus primeiros estudos sobre a tripanossomose americana, a admitir a provável correlação entre os dois factos. A presença de edemas em quase todos os casos agudos da doença, edemas a princípio confundidos com os que ocorrem no mixedema, a bradicardia própria do hipotireoidismo, acentuava essa aproximação, à qual mais tarde se acresceu, depois da descoberta das formas leishmanióides dos tecidos, o facto de que estas se encontravam também na tireóide. Tudo isso eram argumentos que pareciam apoiar a idéia de uma correlação entre bócio e cretinismo endêmico de um lado e tripanossomose americana do outro. Daí a noção de que a esquizotripanose fosse essencial e primordialmente uma tireoidite, o que levou MIGUEL PEREIRA a chamá-la "tireoidite parasitária".

Também o mesmo acontecia com as manifestações nervosas descritas por CHAGAS, as quais, como dissemos, não sendo novidade nosológica, se observavam com desusada frequência na região estudada, sem que para tão alta incidência se encontrasse qualquer outra explicação plausível.

Pôde CHAGAS estabelecer, desde logo, que, ao contrário do que sucede na doença do sono, para o diagnóstico da esquizotripanose não trazem vantagem nem a punção raquiana, nem a punção ganglial, embora da primeira, por inoculação em cobaio tenha colhido alguns resultados positivos.

Mas, desse quadro complexo que assim parecia desenhar-se da doença de Chagas com as múltiplas formas clínicas a princípio admitidas pelo seu descobridor, um estudo mais aprofundado, em grande parte por ele mesmo e seus colaboradores imediatos realizado, foi pouco a pouco afastando aquilo que não cabia. Aliás, nunca considerou CHAGAS que a discriminação por ele feita, com a coopera-

ção de MIGUEL PEREIRA, das formas clínicas da tripanossomose americana, fosse coisa definitiva. Antes, declarou tratar-se de "sistemática transitória da esquizotripanose, declarando, desde logo, ser ela passível de modificações, dependentes de observações novas e mais demorado raciocínio. É o que, de facto, vai acontecer, porque temos agora, além de estudo mais longo, a opinião dos mestres no modo de compreender a moléstia".

Encontrando o *Schizotrypanum Cruzi* no sangue dos tatus da área endêmica de Minas Gerais, CHAGAS abriu um novo campo de pesquisas sobre a doença que descobrira. Mostrou ser ela uma zoonose que aos poucos se foi revelando estar difundida entre os mamais selvagens dos mais diversos grupos: marsupiais, desdentados, roedores, carnívoros, quirópteros e primatas. Foi então fácil concluir que a doença de Chagas, originariamente parasitose de mamais selvagens, até hoje não encontrada entre índios em vida tribal nem entre os caboclos destes descendentes e que lhes conservam os hábitos de construção das casas, só veio a ter importância para a medicina humana, depois que se introduziu no Brasil e em outros países da América o tipo de construção da casa de taipa, importado da Africa.

Apreciando a extensão e o valor da obra de CARLOS CHAGAS, disse EURICO VILLELA estas justas e ponderadas palavras: "Enriquecendo a nosologia de uma nova tripanossomiase do Homem, entidade mórbida até então desconhecida, sequer suspeitada, CHAGAS não deu apenas um quadro sintomático ou identificou um factor etiológico. Construiu um capítulo inteiro da patologia médica, versando todos os seus itens.

"Do germe que descobriu, estudou a morfologia e a biologia, o ciclo evolutivo no vertebrado e no insecto transmissor também determinado por ele e o modo de transmissão. Analisou os processos patogênicos e iniciou a anatomia patológica, executando as primeiras autópsias. Fez o estudo analítico dos sintomas e sintetizou em largos traços as formas clínicas.

"Firmou as linhas gerais da epidemiologia, com a determinação do *habitat* do hematófago transmissor e dos depositários do germe, domésticos e selvagens.

"Indicou as normas de profilaxia e fez os primeiros ensaios terapêuticos.

"Em obra de tal vulto, notável pela extensão e profundidade, executada em seu conjunto por um só pesquisador, em pequeno lapso de tempo, é natural que a contribuição de outros pesquisadores e a reconsideração do próprio autor trouxessem algumas alterações na monumental construção.

"Assim já fizera CHAGAS a "Revisão do ciclo evolutivo do *Trypanosoma Cruzi*", reimpressa em língua inglesa com a "Supplementary note", na qual descreve o modo como deve ser compreendida a evolução no vertebrado (1913).

"Em comunicação feita na "Semana do Laboratório" (São Paulo, Janeiro de 1932), sob o título de "Estado actual da tripanossomíase americana", em rápida exposição do assunto, indicou CHAGAS pontos controversos de doutrina, atinentes não só ao germe, sua evolução, e mecanismo da transmissão, como a alguns aspectos clínicos. É este o último escrito de CHAGAS sobre a tripanossomíase".

O PARASITO E SEU CICLO EVOLUTIVO

Antes mesmo de o ter encontrado em casos de infecção natural do Homem e de mamais domésticos, o flagelado descoberto por CHAGAS no intestino dos "barbeiros" e por ele transmitido aos saguis e a outros animais de laboratório, teve a morfologia e a evolução estudadas por seu descobridor. Dois factos chamaram desde logo a atenção de CHAGAS nas pesquisas a que procedia. Em primeiro lugar, ao contrário do que sucedia com todos os tripanossomas até então conhecidos, no sangue do Homem e dos outros animais, nunca se encontravam formas de multiplicação por divisão binária ou multipla do parasito.

Escreveu então CHAGAS (*Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1 (2): 175, 1909): "as mais minuciosas pesquisas nunca nos permitiram verificar qualquer aspecto que pudesse ser considerado como divisão longitudinal do *Schizotrypanum Cruzi* no sangue periférico ou nos orgãos profundos".

Em segundo lugar, verificava-se uma duplicidade morfológica do flagelado no sangue dos mamais infectados. A princípio mostrava-se ele sob a forma de tripanossomas delgados que, em movimento muito rápido, atravessavam como setas o campo do microscópio. Depois, estes iam diminuindo de número, até desaparecerem por completo, ao mesmo tempo que outros surgiam, mais largos, que, praticamente sem sairem do lugar, se enroscavam, se revoluteavam, os movimentos de enrolamento sobre si mesmos não deixando que se deslocassem, senão muito lentamente, do campo do microscópio. Sobre essas formas escreveu CHAGAS: "Consideramos, pelo que se verifica nos outros protozoários hemáticos, a primeira a forma macho e a segunda

a forma fêmea". Essa interpretação estava de acordo com as idéias naquela época defendidas por toda uma escola de famosos citologistas, que tinham tendência a admitir que a sexualidade, de um ou de outro modo, se manifestava em todos os grupos de protozoários. Em suas aulas do Curso de Aplicação de Manguinhos (1913-1914), CHAGAS explicava o desaparecimento precoce das formas estreitas, supostamente masculinas, do flagelado, pela menor resistência que, em relação ao macrogamento, apresenta geralmente o microgameto, aos agentes nocivos, no caso representados pelos anticorpos específicos que o organismo infectado começava a produzir.

Procurando o elo que lhe faltava no ciclo evolutivo do flagelado, o seu processo de multiplicação no organismo do vertebrado, julgou CHAGAS tê-lo encontrado em certas formas parasitárias, até então não descritas, que descobriu no pulmão do Homem e de alguns animais infectados pelo novo protozoário. Para a pesquisa no pulmão, fora CHAGAS talvez orientado pelos estudos de HENRIQUE ARAGÃO sobre o *Haemoproteus columbae*, cujas formas exo-eritrocitárias tinham sido pela primeira vez encontradas naquele orgão. E' CHAGAS (1909) quem, aludindo à ausência, no sangue dos mamais inoculados e do Homem, de formas de divisão do novo protozoário, diz: "Esse facto, de si, já indicava a existência de outro processo de multiplicação que pesquisamos amplamente, constando ele de esquizogonia do flagelado no pulmão dos animais infectados". Mais tarde dirá ainda CHAGAS (1910): "Ao contrário do que se dá com os tripanossomas, este flagelado não se multiplica por divisão binária longitudinal, nunca sendo encontradas formas de multiplicação no sangue periférico. No pulmão dos animais infectados, e também, no pulmão humano, encontram-se formas de divisão múltipla, de esquizogonia regular, sempre constituidas de oito unidades".

Assim interpretando o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum Cruzi*, estava CHAGAS sendo directamente influenciado pelas idéias então correntes entre os protozoologistas alemães da escola de SCHAUDINN, dos quais dois eminentes representantes trabalhavam então em Manguinhos, MAX HARTMANN e STANISLAS VON PROWAZEK. É o próprio CHAGAS quem afirma ter realizado esses estudos sobre o ciclo evolutivo do esquizotrípano sob a orientação de PROWAZEK: "Der Entwicklungscyclus dieses Parasiten, welcher sehr interessante Phasen zeigt, bildet gegenwaertig den Gegenstand meiner unter Anleitung von Dr. PROWAZEK gemachten Studien". (*O ciclo evolutivo desse parasito, o qual mostra fases muito interessantes, é actualmente objecto de meus estudos feitos sob a orientação do* Dr. PROWAZEK").

Ora, SCHAUDINN, ao mesmo tempo que brilhantemente esclarecia o ciclo de desenvolvimento de vários esporozoários, em um de seus trabalhos fundamentais tinha confundido, como representando fases evolutivas de um mesmo protozoário, três parasitos diferentes da coruja européia *Athene noctua*: um espiroqueta, um tripanossoma e um hemosporídio. Com esses elementos erroneamente reunidos, construiu SCHAUDINN um ciclo evolutivo que não correspondia à realidade, nele apoiando a doutrina de que tripanossomas e hemosporídios representavam fases de desenvolvimento de um mesmo grupo de flagelados. A esse grupo, deu HARTMANN a denominação de *Binucleata*, considerando que, além do núcleo por todos reconhecido, esses flagelados possuissem, no blefaroplasto ou cinetoplasto, um segundo núcleo de função locomotora. Essa parte da doutrina, CHAGAS também a esposa, quando, referindo-se ao esquizotrípano, escreve: "... uma das principais características morfológicas deste flagelado é o tamanho do blefaroplasto ou núcleo locomotor, maior do que em qualquer outra das espécies do gênero *Trypanosoma*. E esse facto faz do parasito um elemento magnífico para os estudos da citologia dos flagelados, vindo aí bem demonstradas as estruturas íntimas de protozoários que constituiram geniais aquisições de SCHAUDINN, de HARTMANN e de PROWAZEK".

As observações de CHAGAS estavam certas, como estavam também de um modo geral correctas as de SCHAUDINN, relativas aos parasitos da coruja européia. O erro, num e noutro caso, estava na interpretação dada a suas observações pelos dois grandes protozoologistas. E isso, em relação ao parasito da tripanossomose americana, não tardou a ficar demonstrado.

Em 1910, ANTONIO CARINI, em São Paulo, encontrava no pulmão de cobaios não inoculados com o flagelado do "barbeiro", nem por ele naturalmente infectados, as mesmas formas parasitárias do pulmão que CHAGAS descrevera como parte do ciclo evolutivo do flagelado que descobrira. A verificação de CARINI foi logo em seguida confirmada em Manguinhos por HENRIQUE ARAGÃO (1911), ficando provado que as formas consideradas por CHAGAS como de gametogonia e de esquizogonia do *Schizotrypanum Cruzi*, e por ele encontradas no pulmão do Homem e do cobaio, representavam na realidade um parasito diferente. Tendo-o encontrado no rato, o casal DELANÖE, do Instituto Pasteur de Paris, reconheceu-o como espécie autônoma, dando-lhe a denominação de *Pneumocystis Carinii*.

Ao mesmo tempo que se desenvolviam esses estudos, uma outra descoberta veio a esclarecer o problema da reprodução do esquizotrípano no organismo dos vertebrados. Uma verificação isolada, em 1910, foi a de MAX HARTMANN que encontrou formas leishmanióides do flagelado no interior de células endoteliais do pulmão do cobaio, sem entretanto, atribuir-lhes qualquer significado no ciclo evolutivo do protozoário. Deve-se a GASPAR VIANNA a demonstração do papel que essas formas de leishmânia, por ele encontradas em quase todos os tecidos do organismo, representam no processo de reprodução do parasito e na patogenia da doença de Chagas.

Foi na suposição de que o flagelado do "barbeiro" passasse no vertebrado por duas fases evolutivas, gametogônica e esquizogônica, que CHAGAS criou o novo gênero *Schizotrypanum*. Este se basearia na existência das formas parasitárias do pulmão, que se veio a provar pertencerem a um outro parasito, que não o agente da tripanossomose americana. Mas, por outro lado, este último apresentava uma particularidade nova que bastava para separá-lo de modo completo e definitivo do gênero *Trypanosoma*. *Essa característica própria consistia na ausência de processos de divisão sob a forma de tripanossoma no vertebrado, forma que o parasito só toma ao cair na circulação sanguínea, esta lhe permitindo penetrar em novas células e nelas se reproduzir sob a forma de leishmânia.* Essa característica de importância biológica fundamental permitiu fosse revalidado o gênero *Schizotrypanum*.

Sobre a validade do gênero *Schizotrypanum* vários técnicos de Manguinhos têm insistido: MAGARINOS TORRES, JULIO MUNIZ, EMMANUEL DIAS e nós mesmo. Em 1962, escrevia MAGARINOS TORRES: "Não cabendo, propriamente, nem em um nem em outro dos dois gêneros, *Trypanosoma* e *Leishmania*, de considerável importância em medicina, o agente da doença de Chagas estabelece um elo entre ambos".

Esclarecidos esses pontos relativos à evolução do esquizotrípano no vertebrado, a atenção voltou-se novamente para o modo de desenvolvimento no invertebrado transmissor.

Embora já tivessem elas sido vistas por CHAGAS, foi EMILE BRUMPT quem chamou atenção para as formas de tripanossoma que o *Schizotrypanum Cruzi* assume no intestino posterior do insecto, depois que as formas sanguícolas por este ingeridas passaram pelos estádios de leishmânia e de critídia. A essas formas finais do ciclo do flagelado no invertebrado transmissor chamou BRUMPT "tripanossomas metacíclicos", considerando-as as únicas formas infectantes do protozoário. Este seria, por conseguinte, transmitido aos vertebrados com as fezes do insecto e não pela picada, ao contrário do que a princípio se pensava e que só excepcionalmente pode acontecer. É essa doutrina de BRUMPT a que hoje geralmente se admite.

Estudando a evolução do *Schizotrypanum Cruzi* no intestino dos triatomíneos transmissores, JOSÉ GOMES DE FARIA e OSWALDO CRUZ FILHO faziam picar animais inoculados com aquele flagelado por larvas de "barbeiros" na primeira fase de seu desenvolvimento pouco depois de saídas do ovo e antes de terem passado pela primeira ecdise ou muda de pele. No fim de algumas horas, essas larvas eram fixadas em líquido de Schaudinn, procedendo-se em seguida a cortes histológicos que eram corados pela hematoxilina de Heidenhain. Verificaram então os dois autores que as formas de tripanossoma do sangue do mamal infectado tinham penetrado nas células do epitélio intestinal do insecto e nelas se multiplicado até rompê-las, antes de cairem livres na luz do intestino. Esse processo de multiplicação era análogo ao que fora anteriormente descrito por MINCHIN, para o *Trypanosoma Lewisi* dos ratos, no intestino das pulgas transmissoras.

Ainda sobre a evolução do *Schizotrypanum Cruzi*, merecem referência os trabalhos de JULIO MUNIZ, em colaboração com GILBERTO DE FREITAS, sobre o determinismo da transformação das formas sanguícolas do esquizotrípano em formas de critídia e sobre a existência de um factor determinante desse fenômeno que ocorre tanto no organismo do insecto transmissor como *in vitro*, em cultura artificial. Os autores demonstraram que esse factor está localizado nas hemátias mas é independente da hemoglobina e que esta, embora necessária, não é suficiente para determinar aquela transformação. Também JULIO MUNIZ e GILBERTO DE FREITAS conseguiram realizar *in vitro* o ciclo evolutivo completo do *Schizotrypanum Cruzi*, obtendo que as formas metacíclicas de tripanossoma desenvolvidas nas culturas em meio artificial se transformassem em elementos leishmanióides para depois se evolverem em tripanossomas metabólicos.

BÓCIO E CRETINISMO ENDÊMICOS E DOENÇA DE CHAGAS

Diz EURICO VILLELA: "De farta e completa colheita de sintomas da forma aguda, pôs [CHAGAS] em destaque um que, por insólito em infecção aguda, e pela frequência com que se mostrava, merecia realmente atenção especial. Trata-se de uma inchação generalizada, um edema que pela [são as palavras de CHAGAS] "natureza dura, elástica, que não guarda a impressão do dedo", e por "crepitar especial (à compressão das bochechas), que denuncia a natureza mucóide da infiltração", foi considerado verdadeiro mixedema.

"Além do aspecto clínico, baseou-se CHAGAS no exame histo-patológico. Em cortes de tecido subcutâneo de fragmentos obtidos por biópsia, verificou-se a presença de mucina, confirmando, deste modo, a natureza mixedematosa do entumescimento".

"Também CROWELL, no protocolo de autópsia feita em uma menina de oito meses, falecida no Hospital Oswaldo Cruz, consigna: "Anatomic diagnosis: Chagas' disease (Trypanosomiasis Cruzi),... myxoedema".

Continua EURICO VILLELA: "A natureza mixedematosa da inchação tem sido impugnada por diversos autores, sem que lhe tenha sido dada outra explicação satisfactória baseada em factos verificados, e não em considerações teóricas ou em analogias hipotéticas.

"É ponto que precisa ser estudado objectivamente, no sentido de determinar a natureza exacta da infiltração; se a sua patogenia decorre da acção directa do tripanossoma ou se toma parte obrigatória na formação dela uma alteração tireoídea.

"Ponto é esse de fundamental importância para o estudo que se vai seguir, porque da convicção que o edema é, na verdade, uma infiltração mixedematosa, e, portanto, consequente à alteração funcional, com ou sem lesão anatômica, da tireóide, nasceu a doutrina de que o bócio endêmico de Minas Gerais tem na tripanossomíase a sua razão etiológica. A hipótese não foi gratuita, e nem nasceu do espírito preconcebido".

Em toda essa discussão sobre se era ou não mixedema a infiltração subcutânea observada em muitos casos agudos, em crianças de mui tenra idade, nem sempre se atentou para o facto de poderem ser congênitas as condições de mixedema e de bócio endêmico e de que a alimentação exclusiva pelo leite materno não exclui essa possibilidade.

Aliás, toda essa questão dos edemas observados na fase aguda da doença de Chagas está precisando ser revista e reestudada em face do que se vem observando nos hospitais em áreas urbanas para onde migraram os pacientes infectados nas zonas rurais de endemia. Põe-se de novo a questão de saber se tais edemas, que pareciam constituir parte integrante essencial do quadro clínico naquela fase da doença, não teriam na realidade outra causa. Nisso fazem pensar as observações de VICENTE AMATO e JOÃO ALVES MEIRA que, dentre 24 casos agudos de doença de Chagas, observados na cidade de São Paulo, no serviço clínico deste último professor, só encontraram 3 que apresentavam edemas na ausência de insuficiência cardíaca, sendo que em dois deles esse sinal foi pouco persistente. Do que concluem os dois ilustres observadores: "Dessa forma, tal edema não pode ser considerado como bastante valioso no sentido de orientar o diagnóstico". Acrescentaremos que não pode também sua patogenia deixar de levantar dúvidas.

Entretanto, bem distinguiu CHAGAS outro tipo de infiltração edematosa nos doentes que observava e, definindo-o, nos casos do que a princípio denominara de forma pseudo-mixedematosa, diz: "Faltam, porém, neles os grandes elementos do mixedema, e mesmo a infiltração mucosa ou mucóide do tecido celular subcutâneo muito se distancia do edema sólido da caquexia paquidérmica de Charcot, não existindo também essa pele com aspecto de pergaminho do mixedema típico".

Ao emitir a hipótese da etiologia parasitária do bócio e do cretinismo endêmicos, tais quais os observara em Lassance, não escapou a CHAGAS a necessidade de se investigar, em diferentes áreas geográficas, a coincidência e a correlação daquelas entidades clínicas e a tripanossomose que descobrira. Em 1910, na memorável conferência que pronunciou na Academia Nacional de Medicina, no Rio de Janeiro, em presença do então Presidente da República, Marechal HERMES DA FONSECA, CHAGAS foi claro e terminante a respeito: "Quanto à distribuição geográfica do conorrino e às correlativas endemias de bócio, esse é um facto que bem depressa merecerá nossa atenção. Até agora, de observações pessoais e de informações colhidas, nas regiões de Minas, onde existe o bócio, existe também o insecto transmissor da esquizotripanose. O caso da capital do Estado de Minas foi aproveitado pelo ilustre professor AUSTREGÉSILO em uma magnífica impressão de síntese que apresentou sobre a moléstia. Realmente, Belo-Horizonte foi, antigamente, o Arraial dos Papudos, e agora, eliminadas ali as residências compatíveis com a existência do "bar-

beiro", de lá desapareceu o bócio, encontrado ainda nos arredores da cidade, em toda a zona circunvizinha, onde abundam também os conorrinos. E a água de que se abastece Belo-Horizonte pertencente à mesma bacia, deve ter a mesma constituição química, idêntica àquela de que se serviam os antigos habitantes".

Estas palavras bem demonstram quanto CHAGAS considerava importante ampliar a outras regiões a investigação da correlação entre a presença do bócio e a existência do insecto transmissor. E mais, que estava em seus planos executar essa investigação.

Conhecidos os trabalhos de CHAGAS, em uma visita ao Rio de Janeiro, durante o IV Congresso Interamericano de Medicina, o ilustre médico e professor argentino NICOLAS LOZANO aqui estudou a documentação reunida sobre a esquizotripanose e logo reconheceu a semelhança dos quadros clínicos observados em Minas Gerais com o que se verificava em certas áreas do norte da República Argentina. Em consequência, entrou em entendimentos com o Departamento Nacional de Higiene de seu país, então dirigido pelo professor JOSÉ PENNA. Em resultado, foi constituída uma comissão composta dos Drs. LOZANO, DELFINO, MAGGIO e ROSENBUSCH, os dois últimos sendo designados para realizarem os trabalhos de campo na província de Salta. Em 1914, MAGGIO e ROSENBUSCH, depois de relatarem (*Anales del Departamento Nacional de Higiene*, v. 24, n. 4) que não encontraram caso agudo algum da doença e que foram negativas a pesquisa directa do parasito no sangue periférico e a inoculação deste em cobaio, em 13 casos de bócio tidos como representativos do quadro clínico descrito por CHAGAS, prudentemente concluiram: "Con estos pocos casos no podemos decir que la enfermedad no existe entre nosotros, pues ya he (*sic*) mencionado el bajo porcentage de positivos encontrados por CHAGAS en las formas cronicas".

Em 1915, num outro trabalho (*Wiener klinische Wochenschrift*, v. 28, n. 35, pp. 942-945), sob o título "Kropf, Kretinismus und die Krankheit von Chagas", o então director do Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene de Buenos Aires, professor RUDOLF KRAUS, com seus colegas daquela instituição C. MAGGIO e FR. ROSENBUSCH, mostraram que em várias províncias da República Argentina (Córdoba, La Pampa, Buenos Aires) existem numerosos barbeiros (lá denominados vulgarmente *vinchucas*), 40 por cento deles infectados, sem que se encontrem casos de bócio. Em outras províncias argentinas, como Salta e Jujuy, ao contrário, coincidia a ocorrência de bócio endêmico com a presença de triatomíneos infectados, num e noutro caso os flagelados encontrados no intestino do insecto produzindo experimentalmente a infecção em animais de laboratório (camundongos, ratos, coelhos e cães), que passavam a apresentar formas de tripanossoma no sangue periférico e elementos leishmanióides nos tecidos.

KRAUS, ROSENBUSCH e MAGGIO tinham desse modo deixado patente que, pelo menos em parte da Argentina, não havia correlação entre o bócio e a presença de barbeiros infectados. Julgaram-se eles, entretanto, autorizados a levarem mais longe suas deduções e a escreverem que: "Em conclusão, queremos mais uma vez voltar a exprimir nossas impressões sobre a discutida questão que surge das relações entre os percevejos infectados e a doença de Chagas na Argentina" (*Zum Schlusse unserer Aussernandererseetzungen wollen wir noch einmal auf die eingangs eroerterte Frage der Beziehungen der infizierten Wanzes zur Chagas-Krankheit in Argentinien zurueckkommen*). Em 1916, voltou à baila a questão, por ocasião da I Conferência da Sociedade Sul-Americana de Higiene, Microbiologia e Patologia, reunida em Buenos Aires, como secção do I Congresso Médico Argentino, quando KRAUS e ROSENBUSCH apresentaram suas observações e argumentos e CHAGAS pronunciou uma conferência, a que assistimos, que teve grande repercussão nos meios da república vizinha.

Além da legítima consequência a se tirar dessas pesquisas, a da inexistência de correlação entre os casos norte-argentinos de bócio e a presença de triatomíneos infectados e da infecção por eles transmitida, infelizmente a conclusão tirada por KRAUS, ROSENBUSCH e MAGGIO deu a falsa impressão de que, se a doença de Chagas não era inexistente na República Argentina, lá seria ela pelo menos bastante rara para que aqueles autores não tivessem podido dela encontrar caso algum devidamente comprovado. Os trabalhos de MUEHLENS e, sobretudo, as amplas investigações de SALVADOR MAZZA e seus colaboradores não tardaram a mostrar quão errônea era esta impressão.

Também os trabalhos de KRAUS, MAGGIO e ROSENBUSCH concorreram para que se espalhasse nos meios médicos brasileiros e internacionais a noção tendenciosamente propalada da raridade, da relativa inocuidade e da limitada distribuição geográfica da esquizotripanose: "doença de Lassance, de que se conhecem cerca de 40 casos", escreveu em 1922 um brilhante mas pouco informado professor brasileiro de higiene.

Mas já então a doença estava longe de ter sido encontrada só em Lassance, e casos parasitologicamente confirmados eram observados em São Paulo, em Ribeirão Preto, por BAYMA, CARINI e MACIEL

em 1914, na cidade de Prata, em 1918, por EURICO VILLELA e, fora do Brasil, na República do Salvador por JUAN C. SEGOVIA. Vários desses casos ocorriam em áreas livres de bócio endêmico, como sucedeu depois com as observações de REICHENOW na Guatemala e de DE COURSEY no Panamá. Essas verificações cedo levaram CHAGAS a considerar questão aberta, essa das relações do bócio endêmico com a esquizotripanose.

Em compensação, em Manguinhos e em outros centros de estudos, aqueles trabalhos argentinos estimularam as pesquisas, não só sobre a ocorrência de triátomas infectados sem a simultânea existência de bócio, ou vice-versa, como também sobre as características clínicas e anátomo-patológicas do bócio endêmico encontrado em Minas Gerais, em confronto com o que era conhecido da Europa e da América do Norte, onde estava excluída a possibilidade de sua etiologia parasitária. Por isso mesmo, com o progredir dos estudos epidemiológicos, mesmo no Estado de Minas Gerais, foram sendo registadas áreas em que se mostravam dissociadas as duas endemias, a de bócio e a de esquizotripanose.

Uma dessas áreas, compreendendo vasta extensão dos municípios mineiros de Conselheiro Lafayette e de Ouro-Preto, onde é intensa a endemia bócio-cretínica, foi estudada por LOBO-LEITE, pesquisador do Instituto Oswaldo Cruz para isso designado pelo próprio CHAGAS. Pôde LOBO-LEITE verificar que os portadores de bócio dessa região, em que se não encontram triatomíneos infectados, mostram pequena incidência de arritmias e de paraplegias, bem como frequência não maior que a normal de casos de morte súbita de pessoas jovens. A reacção de Guerreiro-Machado (reacção de desvio do complemento para diagnóstico de doença de Chagas) em 71 casos de bócio observados nessa zona deu 65 resultados negativos, um resultado inconcludente e 5 fracamente positivos, estes em indivíduos em que o inquérito epidemiológico indicava possibilidade de infecção fora da área estudada.

Também por indicação de CHAGAS, na Secção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz, A. PENNA-DE-AZEVEDO procedeu à revisão do material existente de glândula tireóide, de indivíduos com diagnóstico, clínica e parasitologicamente comprovado de doença de Chagas. Pôde assim reunir, e estudar minuciosamente a tireóide, em 5 casos agudos e 26 casos crônicos de pacientes seguramente infectados pelo *Schizotrypanum Cruzi* e apresentando além do bócio, também doença de Chagas. Uma circunstância digna de nota é a de que a parte do trabalho de PENNA-DE-AZEVEDO, referente às lesões da tireóide nos casos agudos de doença de Chagas por ele estudados, foi publicada ainda em vida do próprio CHAGAS.

Dos cinco casos agudos em questão, três apresentavam o quadro típico do bócio difuso parenquimatoso do recém-nascido, um era de bócio difuso microfolicular e outro de forma de passagem entre esses dois tipos. Em um desses casos, se pôde comprovar a presença de formas leishmanióides do *Schizotrypanum Cruzi* no próprio epitélio da tireóide. Entretanto, nem neste nem nos outros casos agudos estudados por PENNA-DE-AZEVEDO, havia qualquer processo inflamatório intersticial que autorizasse o diagnóstico de tireóidite. Como nos casos de bócio observados em crianças, na Europa, o tipo predominante nesses casos agudos de doença de Chagas, era o de bócio difuso parenquimatoso do recém-nascido.

Também nos 26 casos crônicos de doença de Chagas, estudados por PENNA-DE-AZEVEDO, este pesquisador não encontrou quaisquer lesões inflamatórias que se pudessem filiar à infecção pelo *Schizotrypanum Cruzi*, sendo os tipos de bócio inteiramente comparáveis aos bócios das regiões de grande endemia da Europa e da América do Norte. Quando esses resultados foram publicados, já CHAGAS tinha prematuramente desaparecido do número dos vivos. Talvez por isso é que, em 1932, no último trabalho em que se ocupou da esquizotripanose, CHAGAS, embora tendo abaladas suas convicções iniciais e considerando a questão aberta, ainda não se mostra convencido de que a esquizotripanose não tenha uma interferência na produção do bócio endêmico por ele estudado em Minas Gerais e escreve:

"Discutíveis são as relações de causa e efeito, acaso existentes, entre o bócio endêmico e a infecção pelo *Trypanosoma Cruzi*. Na exposição aqui realizada [Semana do Laboratório, São Paulo, Janeiro de 1932], e em publicações anteriores, não duvidamos em considerar as lesões da glândula tireóide, observadas nas regiões de tripanossomíase, e frequentes nos indivíduos com outros sintomas da doença, como resultantes da acção directa deste protozoário. Razões diversas, algumas altamente valiosas, levaram-nos àquela convicção. Mas, em ciência não existem dogmas, e conceito de tão alto alcance doutrinário, qual o referente à étio-patogenia parasitária do bócio endêmico, não dispensa o fundamento de factos irrecusáveis. Embora persistente na convicção anterior, devemos confessar que o assunto oferece margem a divergências, sendo passível de contestação a doutrina formulada. Será o bócio um sintoma acrescido ao quadro clínico da tripanossomíase, ou constitui

condição patológica simultânea, ligada a factor étio-patogênico desconhecido? Não será agora oportuno desenvolver os largos argumentos de ordem clínica, epidemiológica, fisio-patológica e anatômica cabíveis, para ratificar o nosso conceito ou para infirmá-lo. É uma questão aberta a merecer estudo e perspicácia".

Os largos argumentos a que CHAGAS se refere, estes foram magistralmente expostos em um trabalho datado de 1946, em que EURICO VILLELA analisa toda essa questão, concluindo que:

"A apreciação dos dados actuais, tanto os obtidos por estes pesquisadores [de Manguinhos e outros brasileiros] como os colhidos da literatura estrangeira, na discussão aberta sobre a étio-patogenia do bócio endêmico, observado nas regiões onde grassa a tripanossomíase, mostra que estes *dados actuais* são argumentos de natureza anátomo-patológica, clínica, epidemiológica e bio-química que *não* levam a autorizar a hipótese parasitária anteriormente emitida.

"Entretanto, a indução que esses dados impõem é que a endemia bócio-cretínica observada no Brasil é, sob todos esses aspectos, idêntica às endemias bócio-cretínicas observadas em outros países".

Esse conceito final encontrou apoio ou confirmação ulterior em outras pesquisas realizadas quer por técnicos de Manguinhos quer por outros cientistas. Assim, sob a orientação de EVANDRO CHAGAS, foram realizadas investigações epidemiológicas por A. VIANNA MARTINS, V. VERSIANI e A. A. TUPINAMBÁ em outras zonas do Estado de Minas Gerais em que não se encontravam barbeiros, "zonas silenciosas" como as denominaram esses autores, onde, entretanto, não foram realizadas pesquisas sob os pontos de vista parasitológico nem sorológico, neles existindo o bócio e o cretinismo endêmicos sem que se encontrasse o insecto transmissor da esquizotripanose. No Estado de São Paulo, as investigações de ARRUDA SAMPAIO visaram particularmente os colegiais do município da Capital e dos arredores onde grassa o bócio endêmico na ausência de triatomíneos.

São interessantes as pesquisas bioquímicas do professor BAETA VIANNA, da Universidade de Minas Gerais, visando estudar a distribuição do iodo em zonas em que há bócio endêmico sem a ocorrência de doença de Chagas, em comparação com outras áreas em que as duas endemias coincidem. Em 7 casos de bócio BAETA VIANNA verificou um teor de iodo no sangue inferior à metade do que é encontrado em indivíduos não portadores de bócio. Um dos últimos comentários, nessa questão das relações entre bócio endêmico com a doença de Chagas, foi o de LUÍS CARLOS G. LOBO, JACQUES FRIEDMAN, DORIS ROSENTHAL, ROGÉRIO ULYSSÉA e SÉRGIO FRANCO que, em 1962, reestudaram o assunto em uma área em que as duas condições mórbidas se superpõem, chegando à conclusão de que a esquizotripanose não intervém na produção do bócio endêmico nem tem qualquer influência sobre as funções da tireóide.

A FORMA NERVOSA

Outro tema de discussão, quanto às manifestações clínicas da fase crônica da doença de Chagas, foi o relativo à existência ou não de uma forma nervosa da tripanossomose americana. Em 1910, escrevia CHAGAS:

"Desde o início dos estudos clínicos sobre a moléstia, havia profundamente impressionado nossa atenção a frequência desusada de afecções orgânicas do sistema nervoso, expressando-se em perturbações profundas da motilidade, da linguagem e da inteligência em crianças ou em casos de infantilismo em um núcleo de população relativamente pequeno. Um factor etiológico intenso deveria ali existir para justificar o alto coeficiente de paralisias, de afasias e outros fenômenos nervosos, nunca observados, em proporção aproximada, nos grandes centros de população condensada, em qualquer das clínicas infantis que conhecemos da capital do país.

"Identificar, porém, aquele factor à esquizotripanose, sem base anatômica que sancionasse uma tal interpretação, fora, de certo, prematuro, embora as pesquisas etiológicas para o diagnóstico da sífilis, a reacção de Wassermann, os dados anamnésicos e os sinais físicos fossem negativos; embora fossem ainda negativas as pesquisas relativas ao esclarecimento de qualquer outro elemento etiológico, tóxico, infectuoso ou hereditário; embora finalmente nos doentes portadores das afecções referidas houvesse, de modo constante, a coexistência de outros sinais clínicos da esquizotripanose. Foi quando a autópsia de um caso agudo da moléstia, com sinais clínicos de meningo-encefalite aguda, veio esclarecer nosso raciocínio sobre os numerosos factos observados, mostrando as localizações do *Schizotrypanum* no sistema nervoso central, as lesões por ele ocasionadas, localizações e lesões em focos múltiplos, esparsos em diversas zonas do encéfalo, na córtex, nos núcleos centrais, na protuberância, no bulbo, etc., aí formando quistos parasitários ou determinando infiltrações leucocitárias. E tudo isso bem se harmonizava com os

factos de semiótica nervosa observados, indicando, de modo decisivo, uma acção intensa do *Schizotrypanum* sobre o sistema nervoso, justificando a criação da forma nervosa da moléstia".

O ponto de partida das idéias de CHAGAS relativamente à existência de manifestações nervosas na fase crônica da tripanossomose está aí claramente explicado, justificando o que escreveu EURICO VILLELA em 1946:

"A individuação da forma nervosa crônica da tripanossomíase não nasceu de um conceito estabelecido *a priori*, mas decorreu logicamente da correlação entre os factos de observação clínica e as verificações anátomo-patológicas, de aplicação do método anátomo-clínico ao estudo da doença". Acrescenta EURICO VILLELA que: "Os estudos histo-patológicos de GASPAR VIANNA não deixavam dúvida a respeito do factor étio-patogênico dos fenômenos nervosos estudados".

Uma vez comprovada a ocorrência na fase aguda da tripanossomose de uma meningo-encefalite de êxito muitas vezes letal, raciocinou CHAGAS (1910): "As formas agudas cerebrais da moléstia, numerosíssimas nas zonas contaminadas, tipicamente exemplificadas no caso descrito, serão sempre terminadas pela morte? Seguramente não, porque o grande número de crianças com afecções orgânicas do sistema nervoso representa, de certo, resíduos anátomo-patológicos dos casos de meningo-encefalite aguda".

Hoje se sabe que essas lesões do sistema nervoso central são constantes na fase aguda da doença, embora na maioria dos casos não determinem manifestações clínicas. E' o que MAGARINOS TORRES (1968) assinala ao se referir aos aspectos histo-patológicos da fase aguda da doença de Chagas: "Meningo-encéfalo-mielite (anatomicamente constante dando lugar a manifestações clínicas inconstantes)".

As mais frequentes manifestações nervosas observadas se enquadravam no conceito das encefalopatias infantis, sendo sobretudo representadas pelos casos de diplegia cerebral, mas às vezes por mono e tetraplegias, tudo isso acompanhado de sintomas motores, hipercinésia (movimentos atetósicos, convulsões) e hipertonismo (rigidez muscular e contraturas), coincidindo com perturbações em graus variáveis da inteligência e da palavra. Muitos casos da síndrome ou complexo sintomático de Little se observaram e alguns deles foram figurados por CHAGAS.

No seu último trabalho sobre a tripanossomose americana, recorda CHAGAS que GASPAR VIANNA encontrou formas leishmanióides no ovário, no testículo e, até mesmo, na cabeça de um espermatozóide e que, depois, NATTAN-LARRIER verificou a presença desses elementos na placenta de cobaios inoculados. Lembra que EURICO VILLELA observou a infecção de cães recém-nascidos e natimortos de mãe infectada, nestes últimos observando a existência de uma meningo-encefalite aguda, que era, por conseguinte, congênita. E, procurando uma explicação para o que considerava manifestações nervosas da esquizotripanose, acrescenta CHAGAS:

"Assim reconhecida, em animais de laboratório, a transmissão congênita da tripanossomíase americana, ficaram esclarecidas incógnitas patogênicas, que dificultavam a interpretação de alguns aspectos da doença humana. Não poderíamos em verdade admitir as formas nervosas crônicas da tripanossomíase, como resultantes de infecções adquiridas na vida extra-uterina. Não poderia ser assim porque, em primeiro lugar, a quase totalidade dos casos clínicos agudos, com sintomas meningo-encefálicos termina pela morte, dentro de curto prazo, o que deixava inexplicável a abundância de síndromes nervosas crônicas, que deveriam, em boa lógica, representar resíduos anatômicos de processos encefálicos agudos. Mas, além disso, as alterações nervosas nessa doença datam dos primeiros tempos da vida extra-uterina, o que contrariava, sem nenhuma dúvida, hipótese de processos histo-patológicos de evolução progressiva, após o nascimento.

"À luz da verificação nova, tudo foi melhor interpretado: o sistema nervoso central, principalmente o encéfalo, seria atingido pela acção do tripanossoma durante a vida embrionária, e daí irregressíveis os processos histo-patológicos resultantes, e daí definitivas as síndromes clínicas respectivas. Aliás, é doutrina incontroversa que as encefalopatias crônicas infantis, e nelas se inclui a forma nervosa dessa doença, representam, quase sempre, processos mórbidos de origem intra-uterina".

"Portanto, os três principais elementos celulares do sistema nervoso central ou sejam, a neurólia, a micrólia e a célula piramidal, abrigam esse parasito, que no seu interior se multiplica, e determina, em torno do elemento parasitado, a formação do foco de encefalite, assimilável ao granuloma malárico, no sentido de DUERCK.

"A constituição dos focos inflamatórios do encéfalo e da medula foi amplamente esclarecida pelas pesquisas de EURICO VILLELA. Aí interferem, de modo predominante, elementos da micrólia, mais ou menos entrelaçados de células da neurólia e, às vezes, de outros elementos mononucleares, que representam, com toda probabilidade, macrófagos endoteliais. No interior de tais focos de encefalite é quase sempre observado o protozoário no plasma

de uma das células referidas, ou formando aglomerados, livres após a destruição do elemento parasitado".

À interpretação de CHAGAS, opuseram KRAUS, ROSENBUSCH e MAGGIO a objecção de que bem poderiam todas essas síndromes nervosas ser atribuídas ao bócio e cretinismo endêmicos na região em que foram estudadas, constituindo aquilo que MCCARRISON na Índia denominou "nervous cretinism". Apoiavam-se também KRAUS e seus colaboradores na opinião de SCHOLZ, segundo a qual os cretinos teriam muitas vezes manifestações nervosas comparáveis com as descritas em seus pacientes por CHAGAS. Esse ponto de vista foi formal e energicamente contraditado por WAGNER VON JAUREGG e vale a pena aqui transcrever o que a respeito essa autoridade comunicou a EURICO VILLELA. Escreveu WAGNER VON JAUREGG: "... Quant à la différence entre le crétinisme endêmique et la maladie de Chagas, je peux répéter que le crétinisme endémique n'a pas entre ses symptomes ni des paralysies ni des convulsions. Aussi le cerveau du crétin n'offre pas de lésions locales. Mr. le professeur KRAUS, de Buenos Ayres, a prononcé des doutes sur la différence du crétinisme endémique et de la maladie de Chagas, parce que, selon SCHOLZ, de Graz, les crétins auraient souvent des paralysies et des convulsions, et aussi des troubles localisés du cerveau.

"Mais SCHOLZ n'est pas un auteur qui mérite d'être consideré comme autorité dans cette question, parce qu'il n'a pas de connaissance personelle du crétinisme, et parce qu'il confond toujours les idiots non crétineux et les idiots crétineux.

"La première catégorie montre ces troubles nerveux, paralysies et convulsions, mais pas la seconde".

Essa distinção a que alude WAGNER VON JAUREGG tem escapado à observação de muitos autores, dentre eles sendo citado o próprio VIRCHOW, que confundia os dois tipos bem distintos de idiotas.

Como se vê, as manifestações nervosas observadas por CHAGAS em seus pacientes de Lassance, segundo WAGNER VON JAUREGG, que era na época uma das maiores autoridades no assunto, não podiam ser atribuíveis ao cretinismo endêmico na região, o qual, a ser a mesma entidade mórbida observada em outras regiões de bócio em diferentes partes do mundo, não poderia manifestar-se nem com convulsões ou fenômenos de hipercinese, nem ainda apresentar-se acompanhado de lesões cerebrais em foco, como as que a necrópsia revelava nos doentes de Minas Gerais.

Não sendo atribuíveis ao cretinismo, evidentemente outra causa de ocorrência frequente estava em jogo, uma vez que também a frequência dos casos era grande e, fora de dúvida, muitíssimo superior àquela com que casos análogos se observam em outras partes do país. Descoberta a tripanossomose e encontradas as formas leishmanióides do *Schizotrypanum Cruzi* nas lesões cerebrais, no interior de células da neurólia (mais tarde, E. DE SOUZA-CAMPOS, EURICO VILLELA e EUDORO VILLELA as encontraram nas células nervosas, nos neurônios do cérebro), a conclusão a tirar-se parecia ser aquela a que foi conduzido CHAGAS, a de que à esquizotripanose se devia atribuir a produção daquelas síndromes nervosas.

Esses achados parasitológicos no sistema nervoso central são confirmados por MAGARINOS TORRES (1941) nos seguintes termos: "O *S. Cruzi* com a morfologia de leishmânia é encontrado ao nível e na vizinhança dos focos, mais comumente no interior de macrófagos, também na micrólia perivascular, e, mesmo, na própria célula nervosa".

Daquela conclusão não se poderia fugir sem apelar para uma outra causa que na época não era previsível e que até agora não foi descoberta. A nosso ver, tal causa poderá ser representada pela coincidência de uma infecção por um vírus neurotrópico que seja endêmico na mesma área da ocorrência da tripanossomose, um desses muitos vírus transmitidos por artrópodos, a que preferimos dar o nome genérico de *vectarvírus*, para evitar o barbarismo corrente (*arborvírus* ou *arbovírus*) em que numa mesma palavra composta se misturam radicais de duas linguas diferentes, o latim e o inglês, e que tem conduzido a estranhos mal-entendidos.

Essa é, parece-nos, a alternativa previsível, que está, todavia, ainda no domínio das hipóteses mais ou menos plausíveis, pois nada se sabe ainda da existência desse possível vírus neurotrópico nas regiões em que os casos catalogados como de forma nervosa da doença de Chagas foram encontrados. Foi essa alternativa, aliás, a invocada, embora que o saibamos nada tenha sido publicado a respeito, para explicar que experimentalmente se tenham produzido paralisias, após a inoculação em animais do *Schizotrypanum Cruzi*, camundongos nas experiências de ANGEL GAMINARA, no Uruguai, cães nas experiências de EURICO VILLELA, entre nós: os cães estariam infectados com a "Staupe" ou "canine distemper", a bem conhecida virose que ataca esses animais, e os camundongos com um dos diversos vírus que eles costumam albergar.

MAGARINOS TORRES e JOÃO VILLAÇA (1919) fizeram uma clara distinção clínica e anátomo-patológica entre a doença de Chagas experimental do cão e o "canine distemper", na primeira as células

não se mostrando alteradas, ao contrário do que acontece na segunda. Na esquizotripanose experimental do cão, esses dois autores observaram que, no cérebro, os parasitos geralmente se mostram formando aglomerados de formas tripanossoma nas proximidades dos focos de encefalite, mas não nestes últimos, cada aglomerado envolto ainda pela célula parasitada. Na medula, encontram aglomerados de elementos leishmanióides.

De um ou de outro modo, as manifestações nervosas descritas por CHAGAS representam sequelas de uma infecção aguda que não chegou a êxito letal ou então estão ligadas à condição de hipóxia ou de anóxia consecutivas à cardiopatia chagásica, como querem alguns autores.

Apesar de não ser o *Schizotrypanum Cruzi* um *Trypanosoma*, mas, ao contrário, um tripanossomídeo que biologicamente mais se aproxima das *Leishmania*, há ainda a ponderar que todas as espécies de tripanossomas patogênicos produzem manifestações nervosas. No Homem, isso acontece com o *Trypanosoma gambiense* e com o *T. rhodesiense* produtores da doença do sono, na África, os quais determinam lesões meníngeas e lesões inflamatórias da substância nervosa do cérebro, com as características bainhas peri-vasculares de infiltração leucocitária e os sinais e sintomas bem conhecidos, inclusive a ptose palpebral. Em outros mamais, o mesmo sucede com o *Trypanosoma equinum*, produtor entre nós do "mal de cadeiras" das capivaras, dos veados, dos cães e dos cavalos; com o *T. equiperdum*, produtor da doença venérea dos equinos, a "durina", entre nós conhecida pelo nome vulgar de "môfo"; com o *T. Brucei*, produtor do "nagana" dos mamais domésticos e selvagens da África e, como a doença do sono, transmitido pelas glossinas ou moscas "tsé-tsé"; com o *T. Evansi*, agente etiológico do "surra" dos bovídeos, equinos e elefantes, parasitos todos esses que nos animais sensíveis produzem manifestações nervosas, dentre as quais predominam as paralisias, em particular a paralisia dos membros posteriores, a "queda dos quartos traseiros", que valem à infecção pelo *T. equinum* o nome vulgar de "mal de cadeiras".

Então, se poderia argumentar que, se na verdade. na infecção crônica pelo *Schizotrypanum Cruzi*, não se observam paralisias e outras manifestações nervosas, é essa uma característica a mais, para separar os *Schizotrypanum*, que são parasitos intracelulares dos tecidos, dos *Trypanosoma* que são parasitos extra-celulares da torrente circulatória.

Como sucedera em relação ao bócio e ao cretinismo endêmicos, se procurou verificar, em outras áreas de Minas Gerais, se a esquizotripanose, parasitológica e imunologicamente comprovada, coexistia ou estaria dissociada da ocorrência de casos de manifestaçõese nervosas dos tipos que CHAGAS descrevera de Lassance. Foi essa a origem do posto do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, no sudoeste de Minas Gerais, instalado em cooperação com a Secretaria de Saúde do Estado, por determinação de HENRIQUE ARAGÃO, então director de Manguinhos, e sob a chefia de um técnico do Instituto, EMMANUEL DIAS, que lá executou com resultados muito interessantes um plano piloto de profilaxia da esquizotripanose, dirigindo aquela estação experimental até a sua morte. Durante alguns anos se afirmou que em Bambuí, localidade infestada por barbeiros e em que eram numerosos os casos agudos e crônicos de doença de Chagas, não se verificava a existência das supostas formas nervosas daquela tripanossomose. Percorrendo a região em 1950, pudemos verificar não ser correcta essa informação, uma vez que, em poucos dias de permanência encontramos vários cretinos e casos de mono- e diplegia cerebral. Também se dizia, o que se nos afigurava incrível, que nenhuma significação maior tinha o problema das helmintoses em Bambuí. Foi exactamente o contrário que pudemos verificar pessoalmente, examinando naquele posto mais de uma dezena de pacientes, todos portadores de vermes intestinais, inclusive dois terços deles com ancilostomídeos. Pouco tempo depois, lá se comprovava também alta incidência de esquistossomose.

Hoje, a generalidade dos autores admite que as manifestações nervosas da doença de Chagas se restrinjam à meningo-encefalite ocasionalmente observada em crianças na fase aguda da doença, não sendo a infecção pelo *Schizotrypanum Cruzi* responsável pelos casos em que se observam síndromes nervosas quase sempre compreendidas no quadro clínico das encefalopatias infantis. Resta ainda a saber qual a causa que intervem para que sejam estas tão frequentes em certas áreas do Brasil. Na realidade, na região do norte de Minas Gerais onde CHAGAS descobriu e estudou a esquizotripanose, a nosologia é das mais complexas. Além da malária e das helmintoses, o bócio e o cretinismo endêmicos, as doenças degenerativas resultantes da consanguinidade, as frequentíssimas manifestações nervosas (e as psíquicas concomitantes ou delas resultantes), prováveis sequelas de infecções agudas atingindo o sistema nervoso central e particularmente o encéfalo, tudo isto e provavelmente outras coisas mais, se enredava para dificultar a tarefa do pesquisador de desemaranhar essas tramas de doenças não raro presentes

no mesmo indivíduo e que, todas elas são passíveis de intervir na produção de diversas síndromes nervosas.

Em relação ao que em tempo se considerou forma nervosa da doença de Chagas, os trabalhos realizados, em Manguinhos e no Instituto de Neurologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por ALEXANDRE ALENCAR, um deles em colaboração com PAULO DE ELEJALDE, representam uma revisão completa dos conceitos sobre a participação do sistema nervoso central e visceral no quadro anátomo-patológico da tripanossomose americana, tanto em sua fase aguda quanto na crônica. Na fase aguda, foram encontradas lesões de meningite focal e granulomas corticais, com ou sem a presença de formas leishmanióides do parasito. Os gânglios nervosos intra-viscerais (cardíacos e do tubo digestivo) foram encontrados comprometidos, tanto na fase aguda como na crônica.

É ainda ALENCAR quem confirma que no sistema nervoso central, na fase crônica não existem lesões inflamatórias, ao mesmo tempo que consigna não ter aí encontrado formas leishmanióides. As atrofias corticais, cerebrais e cerebelares, foram interpretadas como resultantes da hipóxia consecutiva à insuficiência cardíaca congestiva terminal.

Por sua vez, os casos de morte súbita em indivíduos jovens, vêm sendo explicados não pelas localizações e lesões provocadas pelos parasitos no sistema excito-condutor do coração, mas, sim, por embolias resultantes de desprendimento de trombos formados nas áreas de estase das cavidades cardíacas, principalmente onde o endocárdio vizinha com mais acentuado processo de miocardite.

A CARDIOPATIA CHAGÁSICA

Se nas páginas anteriores insistimos no que houve passível de dúvida e de discussão na construção monumental de todo um capítulo da patologia humana, foi porque, de um lado procuramos expor o pensamento de CHAGAS, explicar as razões que o levaram a determinadas conclusões, as únicas que na época logicamente se poderiam tirar, e estudar a evolução das idéias sobre o real significado clínico e anátomo-patológico da tripanossomose americana, e, de outro lado, porque neste trabalho estamos fazendo a análise e a crítica da obra do grande pesquisador.

Ao tratarmos da forma cardíaca da doença de Chagas, ao contrário, pisamos um terreno tão firme que não comporta divergências e um campo que se tem mostrado rico em ensinamentos que interessam a toda a cardiologia, não existindo hoje duas opiniões a respeito.

Em 1910 escrevia CHAGAS: "Entre as expressões clínicas mais interessantes da esquizotripanose figuram, sem dúvida, pela sua alta importância no ponto de vista médico e físio-patológico, as perturbações do ritmo cardíaco, ocasionadas pela localização e pelas lesões do esquizotrípano no miocárdio.

"Tal fenômeno de semiótica, de grande frequência na zona de nossos estudos, frequência impressionante e seguramente nunca observada fora daquela condição epidemiológica, havia despertado nossa atenção no início dos estudos clínicos, sem que, entretanto, fosse possível, naquela época, suspeitar de seu mecanismo patogênico. A autópsia, porém, de um caso agudo da moléstia, primeira que realizamos, veio desde logo esclarecer o assunto, chegando o Dr. GASPAR VIANNA, pelo exame histo-patológico do músculo cardíaco, às verificações anteriormente referidas (*). Estes resultados iniciais foram depois confirmados em três autópsias posteriores, sendo uma delas, a última realizada, absolutamente elucidante desse ponto.

"O parasito, como vos disse, localiza-se no interior da célula cardíaca, destruindo-lhe a substância, às vezes totalmente, só poupando o núcleo, e ficando assim a célula transformada numa espécie de bainha, inteiramente repleta de formas arredondadas, aflageladas do protozoário. Pelo seu lado é atingido o tecido conjuntivo, havendo um processo de miocardite intersticial agudo ou crônico, conforme o estádio da moléstia no momento da autópsia".

Mais tarde, de novo CHAGAS e EURICO VILLELA (1922) acentuaram: "A arritmia constitui a nota essencial de tais cardiopatias, e nas suas variadas modalidades, encontramos traduzidas anomalias das principais funções do músculo. Além de que, aquelas modalidades quase sempre se sucedem ou se complicam no mesmo indivíduo. E nem admira que assim seja, uma vez reconhecida a intensidade progressiva e a difusão do processo patológico em todo o miocárdio, com as suas localizações possíveis em zonas funcionais especializadas do coração". Daí ser quase supérflua a enumeração, que fazem os dois autores, dos diversos aspectos que revestem as alterações do ritmo na cardiopatia chagásica.

(*) A descoberta das formas leishmanióides do *Schizotrypanum Cruzi*.

Ao lado das manifestações de insuficiência cardíaca (baixa tensão arterial, congestões viscerais, dispnéia, fadiga de esforço, edemas, etc.), são essas variadas formas de arritmia que caracterizam a cardiopatia na doença de Chagas.

Na época em que isto era escrito, se estava ainda na fase puramente acústica da exploração clínica do coração. Além dos dedos, dos ouvidos e dos olhos, o médico dispunha apenas, como instrumentos de exploração, do termômetro, do estetoscópio e do martelo com que investigava os reflexos. Os esfigmógrafos e os esfigmomanômetros eram ainda aparelhos que mais se viam nos laboratórios de fisiologia do que nos hospitais e consultórios médicos. Entretanto, naqueles primeiros decênios do século, já CHAGAS os utilizou correntemente, bem como a cinematografia, esta para registar outra ordem de fenômenos que observava.

O último escrito de CHAGAS em que ele versa o assunto da esquizotripanose, é a comunicação feita na "Semana do Laboratório", em São Paulo, em Janeiro de 1932, mas só publicada após a morte do autor, ocorrida em 1934 (*Revista de Biologia e Higiene*, 5 (2): 58-64, São Paulo, 1934).

Não é aqui o lugar de rever e recordar tudo o que depois foi feito na investigação da cardiopatia chagásica, bastando lembrar que a electrocardiografia teve no assunto um papel fundamental e encontrou entre os primeiros, e talvez como primeiros a utilizá-la em nosso País, CHAGAS e EURICO VILLELA. Foi ela depois um precioso meio de investigação da cardiopatia chagásica em Manguinhos, proficientemente utilizada por EVANDRO CHAGAS, GENARD CARNEIRO DA CUNHA NOBREGA, SINVAL LINS, FRANCISCO DA SILVA LARANJA e outros clínicos do Instituto.

Com a viva e aguda percepção de que era dotado, viu logo CHAGAS que a descoberta da tripanossomose americana não vinha apenas abrir e acrescentar um novo e importante capítulo na patologia humana, mas também colocar nas mãos dos pesquisadores, que dele quizessem e soubessem se utilizar, um novo instrumento de trabalho da maior utilidade para o cardiologista, o patologista e o próprio fisiologista, uma vez que, com o agente etiológico da doença, quase com precisão, se determinam nos animais de experiência efeitos que o experimentador será capaz não só de observar, mas também de, em parte, conduzir. É o que, no trabalho que tantas vezes citamos, porque nele o autor faz uma excelente sintese do que até 1910 observara, escreve CHAGAS:

"Certo, porém, nesta determinação especial da esquizotripanose encontrará a fisio-patologia do coração elemento de estudo magnífico para o esclarecimento de numerosos pontos obscuros, não só pela ligação evidente de fenômenos a sua razão etiológica e a sua condição anatômica".

Não se limitam, porém, às lesões de miocardite as alterações patológicas do coração na esquizotripanose.

DOENÇA VASCULAR DO CORAÇÃO E ARTERIOSCLEROSE CHAGÁSICAS

Na aparentemente infindável série de novos factos e de novos conceitos com que a cardiopatia chagásica surpreende o clínico e o patologista, é das mais importantes a demonstração da existência de lesões coronárias e de uma arteriosclerose ligadas à acção do *Schizotrypanum Cruzi* e sem qualquer relação com os processos de doença das coronárias e de arteriosclerose classicamente conhecidos e cujas causas até hoje não estão bem determinadas.

Deve-se a MAGARINOS TORRES uma apreciação desses factos que, veremos, são de fundamental relevância para a compreensão da patogenia da cardiopatia chagásica. Em 1958, escreveu MAGARINOS TORRES: "Alterações vasculares do coração de pacientes com cardiopatia chagásica crônica têm sido relatadas, de longa data, pelos clínicos (LARANJA, DIAS e NOBREGA, PERA, RUY MARQUES), sendo confirmadas na mesa de necrópsias, por ANDRADE e ANDRADE e por BARROS COELHO". E acrescenta: "Revendo o material que, em colaboração com EITEL DUARTE venho estudando nestes últimos anos, o qual nos tem sido enviado, seguidamente, pelo Dr. EMMANUEL DIAS, de pacientes observados em Bambuí, E. de Minas Gerais, Brasil, despertou a minha atenção a presença constante de lesões vasculares, as quais comprometiam, de modo dominante, as finas ramificações das artérias coronárias, de modo que podem escapar mesmo quando feito o estudo das coronárias por meio de radiografias contrastadas, conforme o resultado publicado por ANDRADE e ANDRADE (Bol. Fund. Gonçalo Moniz, 1955, 6:1-53).

"Imprimem elas um "cachet" especial ao coração dos chagásicos crônicos, constituindo elemento decisivo no diagnóstico anatômico da doença, quando este é baseado exclusivamente no aspecto macroscópico e no quadro histo-patológico, abstrain-

do-se do encontro raro e caprichoso de formas de leishmânia do *Schizotrypanum cruzi*, nos tecidos.

"Na realidade, as lesões de miocitólise focal do miocárdio, feliz designação empregada por SCHLESINGER e REINER (*Amer. J. of Path.*, 1955, 31 (3): 443-459), ao estudarem lesões miliares do miocárdio, sobrevindas na doença das coronárias, lesões típicas e de fácil identificação no coração dos chagásicos crônicos, representam o resultado imediato ou a consequência directa de tal processo vascular.

"O componente vascular foi adquirindo, assim, a meu ver e à medida que aumentava a minha experiência, papel tão importante quanto o do componente inflamatório (miocardite), sendo certamente o mais importante, conforme afirmaram ANDRADE e ANDRADE (*loc. cit.*) nas lesões do sistema de condução responsável pelas manifestações clínicas descobertas por CARLOS CHAGAS, estudadas depois por CARLOS CHAGAS, EURICO VILLELA e EVANDRO CHAGAS, mais tarde sistematizadas por LARANJA, tendo sido vantajosamente aproveitadas por LARANJA, DIAS, NOBREGA e MIRANDA (*Circulation*, 1956, 14 (6): 1035-1060) no diagnóstico dos casos crônicos da doença de Chagas, em seus extensos inquéritos epidemiológicos".

A comprovação desses factos em casos fatais de cardiopatia chagásica mostrou que o processo consiste em lesões obstrutivas das finas e médias ramificações intracardíacas das coronárias e, em menor escala, dos ramos arteriais localizados no epicárdio, o espessamento da íntima, devido à proliferação de fibras colágenas nas camadas conjuntivas sub-endotelial e músculo-elástica (*coronarite chagásica*), com ausência de degeneração lipóide ou sendo esta insignificante. Evidentemente, do mesmo modo que na arteriosclerose comum, essas lesões conduzem a uma diminuição da luz do vaso e podem ser acompanhadas de trombose. De tudo isso, resulta a isquemia da área irrigada pelas ramificações coronárias lesadas, a qual conduz ao processo de miocitólise focal no miocárdio adjacente.

Segundo MAGARINOS TORRES, a miocitólise focal, associada à miocardite esquizotripanósica crônica no miocárdio circunvizinho, constitui a lesão mais frequente e de maior significado, no sistema de condução do coração.

Discutindo esses achados e as conclusões que deles naturalmente decorrem, MAGARINOS TORRES examina os fundamentos em que estas se baseiam, em particular no que se refere à possível ocorrência simultânea da clássica doença das coronárias e da doença de Chagas, e escreve:

"A idéia que ocorre, ao se tomar conhecimento das lesões das arteríolas do miocárdio, encontradas no *primeiro caso* que se tem oportunidade de estudar de cardiopatia chagásica crônica, é a de que se trata de uma associação da doença de Chagas à forma peculiar de arteriosclerose que atinge indivíduos jovens e mesmo a criança, já mencionada em 1905, por WIESEL e por WINSNER, tendo sido objecto de estudo pelas maiores autoridades em patologia vascular (RÖSSLE, MÖNCKEBERG, etc.).

"O quadro microscópico, com efeito, apresenta grande semelhança com o da arteriosclerose.

"Tal idéia fica um pouco abalada, quando verificações idênticas são depois realizadas, no *segundo*, no *terceiro*, e finalmente, *em todos os casos de cardiopatia chagásica crônica estudados*, não só nos do grupo etário de 10 a 20 anos, como, também, no mais numeroso de 20 a 50 anos".

Quando se chega a essa verificação final, evidencia-se a conclusão de que não se trata de uma associação de arteriosclerose com doença de Chagas e, sim, de um dos aspectos constantes da cardiopatia chagásica. Aliás, várias particularidades distinguem a coronarite e a arteriosclerose chagásicas, dessa outra forma comum e de causa ainda mal averiguada de arteriosclerose. Depois de citar JONES (*Hbuch. d. spez. path. Anatomie*, de HENCK e LUBARSCH, v. II, 1924) que considera a presença de placas de degeneração lipóide na aorta, especialmente quando associadas a ligeira hiperplasia da íntima, condição necessária para o diagnóstico de arteriosclerose, chama MAGARINOS TORRES a atenção para o facto da distribuição "por assim dizer, específica" das lesões observadas nos casos crônicos de cardiopatia chagásica, distribuição "limitada que é às finas ramificações das coronárias e poupando as arteríolas de outros órgãos (cérebro, rins e baço), tão regularmente comprometidas na arteriosclerose. É sabido que os acidentes vasculares cerebrais, na forma crônica da doença de Chagas, correm por conta de embolias dependentes de trombose do ventrículo esquerdo e da aurícula direita, e não de processo vascular lesando primariamente as paredes das artérias cerebrais".

A esse propósito, merecem referência especial as verificações feitas na Bahia por ZILTON A. ANDRADE e SONIA G. ANDRADE (1955) que, do estudo anátomo-patológico do coração em 28 casos crônicos de doença de Chagas, concluem:

"Não encontramos em nenhum outro orgão examinado a menor evidência de um processo inflamatório ou degenerativo, que sugerisse a actuação directa ou indirecta do *T. Cruzi*. As lesões encontradas em outros orgãos, nos casos da presente série, eram produzidas por doenças associadas ou

decorriam da congestão passiva dependente da falência miocárdica ou, então, eram consequência de fenômenos trombóticos".

E, acrescentam os dois ANDRADE: "Ao considerar os fenômenos trombo-embólicos, devemos voltar a nos referir às tromboses cardíacas. Estas estiveram presentes em 22 dos 28 casos estudados (78%), contando somente as tromboses bem evidentes".

Conclui MAGARINOS TORRES:

"A cardiopatia chagásica crônica representa, em grande parte, um processo vascular (arteriosclerose e coronarite chagásicas), intimamente associado à miocardite esquizotripanósica, dando lugar, em virtude da isquemia do miocárdio, a um quadro histo-patológico peculiar que é a miocitólise focal.

"Tal processo é o principal responsável pelas lesões do sistema e pela sintomatologia da cardiopatia chagásica".

COMPLEXIDADE DA CARDIOPATIA CHAGÁSICA

Esses trabalhos, é MAGARINOS TORRES quem o diz, conduziram gradualmente a um novo conceito de que "a doença de Chagas, no que respeita ao coração, não é somente *doença infectuosa* que produz pancardite. É, além disso, uma doença vascular do coração". E sintetiza:

"O quadro histo-patológico da cardiopatia chagásica é complexo:

"a) *Lesões inflamatórias (miocardite esquizotripanósica)* assestadas preferentemente na base dos ventrículos, no ápice do ventrículo esquerdo e, com muita intensidade, no sistema de condução do impulso cardíaco.

"b) *Lesões vasculares obliterativas de origem inflamatória (coronarite* e *arteriolite chagásicas)* ocasionando enfartes miliares do miocárdio.

"c) *Lesões obliterativas consecutivas a trombose das coronárias*, responsáveis por enfartes anêmicos.

"d) *Isquemia do músculo cardíaco*, dependente de prolongada congestão passiva, responsável pela *miocitólise das fibras musculares cardíacas* com caracteres histo-patológicos peculiares".

ANATOMIA PATOLÓGICA E PATOGENIA: ORIGENS ALÉRGICAS DAS LESÕES CARDÍACAS

Depois dos estudos iniciais de CHAGAS que realizou as primeiras necrópsias de casos agudos e crônicos da tripanossomose americana, foi no clássico trabalho de GASPAR VIANNA (1911) que, pela primeira vez e de um modo geral, se traçou um quadro anátomo-patológico da doença, acompanhado de uma demonstração gráfica excelente, representada pelos magníficos desenhos de CASTRO-SILVA. A esse trabalho, seguiu-se o de MARTIN MAYER e ROCHA-LIMA (1914).

É preciso recordar que, ao ser descoberta a esquizotripanose, no princípio do século corrente, dominava na patologia a concepção da acção directa dos microrganismos e das substâncias por eles produzidas, sobretudo as toxinas, substâncias tóxicas de acção antigênica. Não se veio a conceber outro modo de acção patogênica dos micróbios, senão depois dos estudos de CHARLES RICHET sobre a anafilaxia e de VON PIRQUET sobre a alergia. Mas, tais estudos no primeiro decênio do século e nos anos que logo se lhe seguiram estavam apenas esboçados e, naturalmente, se procurou explicar a acção patogênica do *Schizotrypanum Cruzi* pela intervenção de uma toxina, cuja existência era postulada mas nunca foi demonstrada.

Como não podia deixar de ser, o trabalho magistral de GASPAR VIANNA reflecte conceitos da época tanto mais quanto a descoberta, por ele feita, do modo de desenvolvimento do esquizotrípano que, no vertebrado, se reproduz sob a forma de leishmânia no interior de células dos mais diversos tipos, parecia dar logo uma explicação suficiente da patogenia da doença: acção mecânica dos aglomerados parasitários provocando a destruição das células invadidas e reacção inflamatória devida à presença dos parasitos. A análise desse trabalho de GASPAR VIANNA foi feita em 1962 por MAGARINOS TORRES, na "Opera Omnia" daquele autor, editada por EDGARD DE CERQUEIRA FALCÃO.

Chama MAGARINOS TORRES (1962) atenção para o facto assinalado por GASPAR VIANNA (1911) e que não parecia estar de acordo com as idéias então correntes, de não ter a localização dos focos de reacção inflamatória do coração na doença de Chagas qualquer relação com a distribuição dos aglomerados de formas de leishmânia do esquizotrípano no interior das fibras musculares cardíacas. É nestes termos que VIANNA se refere a essa aparente incongruência: "Os fenômenos inflamatórios são muitas vezes localizados ao redor das fibras parasitadas, mas não só há zonas infiltradas sem

haver parasitos, como há muitas células parasitadas sem acção peri-celular". E TORRES explica: "Só muito mais tarde é que tal fenômeno pôde ser compreendido, quando firmado o conceito de que as reacções inflamatórias observadas no estroma do miocárdio, em gânglios linfáticos, no baço e no sistema nervoso central, representam uma reacção alérgica, uma resposta a proteínas heterólogas (esquizotrípano-proteínas), introduzidas no organismo, e não uma consequência da presença *in loco* do agente etiológico".

No trabalho de MARTIN MAYER e H. DA ROCHA-LIMA, os dois autores também referem que, no vertebrado infectado se encontraram células sem alterações apreciáveis, contendo grande número de parasitos de morfologia bem conservada, ao mesmo tempo que outras, grandemente lesadas, mostram por vezes reduzido número de exemplares do protozoário, mas estes frequentemente em parte destruídos ou de aspecto anormal. Essa observação levou MAYER e ROCHA-LIMA a pensarem que, depois de morto, talvez o esquizotrípano tivesse sobre o organismo parasitado uma acção mais nociva, i.e., uma acção patogênica mais acentuada, do que quando ainda vivo. Estava desse modo indicado que substâncias resultantes da desagregação dos corpos tripanossômicos fossem a causa das lesões das células parasitadas. Todavia, não só MAYER e ROCHA-LIMA, implicitamente consideravam que essa acção se exercia a modo da das endotoxinas de outros microrganismos, como não excluiam a intervenção de outras causas, tais como a acção mecânica por compressão do aglomerado parasitário sobre o conteúdo normal da célula e a perda de substância desta última. A observação de MAYER e ROCHA-LIMA foi o ponto de partida que tomou JULIO MUNIZ (1967) ao procurar caracterizar essas substâncias resultantes da desagregação do esquizotrípano e do próprio corpo celular que o encerrava. Para isso, MUNIZ e seus colaboradores J. GOMES DE SOUZA e LIÈGE GALVÃO QUINTÃO procuraram realizar *in vitro* condições comparáveis às que ocorrem no organismo parasitado, empregando a técnica da dupla difusão de OKLEY e FULTHORPE (1953). Utilizando culturas em plena actividade do esquizotrípano e um imune-soro específico, separados por uma coluna de gel representada pelo próprio meio de cultivo (o meio de Noguchi), mostraram que, durante o desenvolvimento *in vitro* das formas de leishmânia, de critídia e de tripanossomas metacíclicos do *Schizotrypanum Cruzi*, são liberados componentes do flagelado dotados de acção antigênica conforme se pode comprovar pelas reacções que provocam em presença dos anticorpos específicos. Entretanto, é difícil saber se tais componentes, que, em grande parte, são constituídos por uma fracção polissacarídeo, são produtos de metabolismo ou, ao contrário, se resultam de um processo destrutivo agindo sobre o corpo do protozoário.

MAGARINOS TORRES, em 1917, publicou um trabalho igualmente tornado clássico, sobre as alterações da fibra muscular cardíaca na moléstia de Chagas, nele descrevendo as alterações daquele elemento celular que receberam de SALVADOR MAZZA, M. E. JOERG e L. J. CANAL-FEIJÓO (1938) a denominação de *lesão de Magarinos Torres*.

Mais tarde, MAGARINOS TORRES (1929) concluiu que a miocardite intersticial crônica não representa o resultado da evolução tardia da miocardite aguda difusa da fase aguda da doença de Chagas, mas, sim, um processo em plena evolução, contínua e progressiva, devida não só à acção constante e repetida do parasito, como também à instalação de uma condição de alergia. Em 1941, TORRES mostrou que a doença de Chagas pertence ao grupo das doenças infectuosas específicas caracterizadas por um granuloma inflamatório, nela outrossim desempenhando um papel importante as reacções alérgicas, ou sendo os processos patológicos modificados em virtude de infecção primária anterior.

Em cães jovens inoculados, TORRES verificou ainda "que a infiltração celular inflamatória do tecido intersticial do miocárdio se inicia em torno dos vasos que acompanham as finas trabéculas da trama conjuntiva do miocárdio, ou sejam capilares e precapilares.

"A reacção inflamatória nada tem a ver, directamente, com a presença do *S. Cruzi* no interior da fibra muscular cardíaca, sendo verificação comum o encontro de fibras parasitadas sem nenhum infiltrado celular inflamatório em sua vizinhança.

"Contudo, os capilares e precapilares em torno dos quais se processa intensa infiltração por células amebóides migradoras monocitóides são encontrados, justamente, em territórios do miocárdio onde mais numerosas são as fibras musculares contendo parasitos (*áreas de colonização* pelo *S. Cruzi*).

"Repetimos que, desde o início, trata-se de infiltração por células amebóides migradoras do tipo monocitóide, de dimensões semelhantes às de monócitos típicos do sangue associadas a histócitos e, em menor número, a linfócitos, ocasionalmente, a células plasmáticas.

"O carácter peculiar desse exsudato, diferente do observado no processo inflamatório agudo, é o fundamento de incluirmos a doença de Chagas no grupo das doenças infectuosas com reacções

mesenquimatosas peculiares, ou doenças infectuosas específicas".

MAGARINOS TORRES assinala que: "Nos casos agudos de moléstia de Chagas, a miocardite aguda difusa oferece intensidade não encontrada em nenhuma outra doença humana". E acrescenta, o que já anteriormente ele mesmo assinalara:

"Além da notável infiltração celular do tecido intersticial, ocorrem, em grau mais ou menos intenso, a degenerescência ceróide, a degenerescência hialina, em grau menor, a infiltração gordurosa degenerativa, e, ainda, alterações peculiares do citoplasma diferenciado, as quais, pela primeira vez, evidenciamos na fibra muscular cardíaca de casos agudos dessa molestia". Estas últimas alterações é que constituem a "lesão de Magarinos Torres", como a chamaram MAZZA, JOERG e CANAL-FEIJÓO.

Recordando trabalhos seus anteriores, MAGARINOS TORRES (1941) escreve:

"Distingue-se a miocardite crônica, pelo seu carácter difuso, sem relação com alterações dos ramos arteriais calibrosos".

Outrossim, estudou MAGARINOS TORRES (1941) as lesões observadas no nódulo de Keith e Flack e no *crus commune* do feixe de Hiss, assinalando as encontradas por S. MAZZA, G. BASSO e JOERG (1939) no feixe de Weickeback, em cuja raiz esses autores verificaram serem escassos os focos inflamatórios que aumentam de número e tendem a confluir, à medida que esse feixe se aproxima do nódulo de Aschoff-Tawara.

Resume MAGARINOS TORRES a evolução das idéias relativas à patogenia da doença de Chagas, escrevendo em 1941:

"O conceito dominante, até agora, na patogenia da doença de Chagas, é que a reacção inflamatória se inicia em torno do *S. Cruzi* e de células por ele parasitadas e destruídas.

"O conceito novo que agora introduzimos, e que nos parece ser o exacto, é de que as lesões inflamatórias se iniciam, não em torno do *S. Cruzi* e de células por ele parasitadas e destruídas, mas, sim, ao nível dos pequenos vasos sanguíneos, capilares e precapilares, dos territórios onde a colonização pelo *S. Cruzi* é mais intensa.

"O processo inflamatório na doença de Chagas é, pois, a consequência de uma acção induzida à distância, pelo *S. Cruzi*, por meio de uma hipotética *toxina esquizotripânica*, a qual, possivelmente seria, em parte, a "substância solúvel" de Mazza-Joerg, por eles evidenciada graças ao fenômeno de Schwartzmann".

Por outro lado, as pesquisas de JULIO MUNIZ e de PENNA-DE-AZEVEDO (1947) vieram trazer uma brilhante confirmação experimental da interpretação dada por MAGARINOS TORRES (1929) da patogenia da doença de Chagas através de fenômenos de alergia. Como animal de experiência MUNIZ e PENNA-DE-AZEVEDO escolheram o "rhesus" (*Macaca mulatta*) pela circunstância de apresentar esse primata, quando infectado pelo *Schizotrypanum Cruzi*, um comportamento imunológico muito semelhante ao do Homem, ao contrário do que sucede, por exemplo, com o cão ou o cobaio. Utilizaram a princípio dois "rhesus", aos quais injectaram, com três dias de intervalo, por via venosa, 5 doses a um e 8 doses a outro, de um antígeno representado por lisados e suspensões de formas mortas de cultura de esquizotrípano em agar glicosado com sangue de coelho (MUNIZ e FREITAS), separados de partículas e proteínas estranhas por diluições e centrifugações praticadas cinco vezes sucessivas. Passados 12 a 13 dias, era aplicada a injecção desencadeadora pelas vias venosa, intra-pleural e intra-cardíaca. O primeiro "rhesus" foi sacrificado após 8 e o segundo após 33 dias do emprego da dose desencadeante. À necrópsia, ambos os animais mostraram dois tipos de lesões: a) lesões de natureza hiperérgica das pleuras, traduzindo-se por processo inflamatório e formação de granuloma (inflamação alérgica granulomatóide) com cicatrização consecutiva; b) lesões inflamatórias do coração reproduzindo *exactamente* a miocardite observada na doença de Chagas.

Como testemunhas, MUNIZ e PENNA-DE-AZEVEDO utilizaram dois outros "rhesus", a um dos quais foram aplicadas no mesmo dia uma injecção intravenosa e outra no coração da suspensão da massa dessecada do parasito e no outro cinco injeções intra-venosas sucessivas com três dias de intervalo, num e noutro caso não se aplicando a injecção desencadeante. Nesses animais testemunhas, a necrópsia não revelou as lesões pleurais e cardíacas que os primeiros tinham apresentado.

Esses resultados experimentais de JULIO MUNIZ e PENNA-DE-AZEVEDO constituem uma prova da natureza imuno-alérgica das lesões cardíacas da doença de Chagas, conforme anteriormente as havia interpretado MAGARINOS TORRES.

Em trabalho ulterior, numa transposição para a doença de Chagas da prova de Prausnitz-Kunstner, conseguiram MUNIZ e PENNA-DE-AZEVEDO (1949) transmitir passivamente ao "rhesus" normal, i.e., não infectado por esse flagelado nem sensibilizado pelos derivados das respectivas culturas, o estado alérgico ao *Schizotrypanum Cruzi*. Para isso, injec-

taram em ambas as pleuras de um desses "rhesus" normais, o soro de macacos da mesma espécie que tinham servido à experiência anterior e estavam sensibilizados pela injecção de lisados e suspensões de culturas mortas do flagelado. Dois dias depois, injectaram numa das pleuras (e não na outra) 0.5 ml do antígeno representado por lisado da mesma procedência. No dia seguinte, injectaram por via venosa mais 2 ml do soro de "rhesus" sensibilizado. Oito dias após foi o animal sacrificado. Na pleura que recebera o antígeno, foram observadas lesões que não eram encontradas naquela que não fora injectada. Essa experiência demonstra que a sensibilidade adquirida por um indivíduo aos derivados da cultura do *S. Cruzi* pode ser passivamente transferida a outro, a reacção estando condicionada ao prévio contacto das células com o soro do animal sensibilizado, o que demonstra ser o fenômeno da natureza de uma reacção antígeno-anticorpo.

Na corrente de idéias que essas pesquisas sugerem, estão os trabalhos de BOTAFOGO-GONÇALVES que atribui às reacções antígeno-anticorpo a acção patogênica do esquizotrípano na fase crônica da doença. Essa acção é exercida através de dois tipos principais de antígenos, de um lado os oriundos de constituintes do próprio corpo do parasito (proteínas, polissacarídeos), de outro lado auto-antígenos formados secundariamente pela interacção dos antígenos da categoria anterior e as substâncias das células desintegradas em virtude da intervenção do complexo antígeno-anticorpo, inicialmente constituído.

Estando nós analisando no presente trabalho apenas as contribuições da Escola de Manguinhos, não desenvolveremos aqui, mas não podemos deixar de a ela nos referirmos, a outra doutrina relativa à patogenia da doença de Chagas, doutrina representada pela interpretação dada por FRITZ KOEBERLE e sua escola de Ribeirão Preto. Atribui KOEBERLE a acção patogênica do esquizotrípano à "liberação de uma substância extremamente deletéria para o neurônio. Segundo a nossa opinião", continua KOEBERLE, "deve tratar-se de uma endotoxina (neurotoxina). Se essa substância neurotóxica é uma verdadeira toxina, uma enzima ou outra substância qualquer, que exista associada a uma substância própria do organismo do hospedeiro, é questão a investigar". Teria essa substância tóxica uma afinidade particular para o sistema nervoso autônomo.

Acrescenta KOEBERLE: "Para o esclarecimento da patogenia da doença de Chagas, a natureza dessa substância neuro-tóxica é secundária. *O facto fundamental reside na destruição neuronal.* É de fácil compreensão que essa destruição ocorra na fase aguda, quando o parasitismo é intenso e faltam ainda os meios de defesa específica do macro-organismo. Isso foi em nosso serviço, provado por A. ALCÂNTARA, que encontrou, em corações de ratos chagásicos em fase aguda, até 81% dos neurônios intra-cardíacos irreversivelmente lesados".

KOEBERLE admite que na doença de Chagas a fase aguda septicêmica se evolva para uma fase crônica caracterizada pelas "patias" chagásicas, resultantes de sequelas da fase aguda. Segundo KOEBERLE, esse conceito permite melhor compreender a patogenia das diversas manifestações até hoje não incluídas no quadro da esquizotripanose, apesar do seu descobridor já suspeitar de sua existência.

Não podemos deixar de assinalar que a opinião de MAGARINOS TORRES é formalmente contrária à interpretação de KOEBERLE, que ele atribui a falhas de observação e de experimentação.

OS MEGAS E A DOENÇA DE CHAGAS

Em suas viagens através do Brasil, frequentemente se defrontaram os pesquisadores de Manguinhos com a condição mórbida que os nossos sertanejos denominam "mal de engasgo". Referências a essa condição se encontram no relatório de ARTHUR NEIVA e BELISÁRIO PENNA, da travessia que fizeram do Nordeste e do Brasil Central e no diário de nossa viagem com ADOLPHO LUTZ e SOUZA-ARAUJO ao Alto Paraná e ao sul de Mato Grosso. Mas, o "mal de engasgo" é muito espalhado em outras regiões do País, no interior de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso, em certas regiões quase a cada passo se deparando com casos dessa afecção, que até há pouco tempo era apenas definida como uma "disfagia espasmódica". Quanto à etiologia, nada de positivo se sabia. Diante da denúncia, em seu relatório feita por NEIVA e PENNA, do abuso excessivo do tabaco por parte de certas populações do interior de Goiás, pensou-se mesmo na intervenção da intoxicação tabágica, tendo MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA realizado a respeito alguns estudos experimentais que pareceram a princípio concludentes. O mesmo ilustre fisiologista obteve experimentalmente a dilatação crônica do esôfago do cão, pela secção parcial dos pneumogástricos.

CHAGAS, todavia, com a intuição que era uma das qualidades de sua inteligência, a partir de certa época, passou a atribuir à tripanossomose a produção do "mal de engasgo", embora ao que parece nada tendo deixado escrito a respeito. Lembramo-nos bem, entretanto, de tê-lo ouvido falar no assunto, manifestando essa opinião.

Quando o emprego dos raios X para diagnóstico começou a se introduzir e a se divulgar nas cidades do interior do Brasil, o exame radiológico dos pacientes com "mal de engasgo" revelou que eram eles portadores de mega-esôfago. Depois, se verificou que essa condição mórbida particular não se limitava ao esôfago e, sim, se estendia a outras vísceras ocas, em particular no tubo digestivo ao cólon, constituindo o mega-cólon. O estudo sistemático de milhares desses casos, com anamnese, reacção de Guerreiro-Machado para o desvio do complemento na infecção esquizotripanósica e a pesquisa parasitológica (exame directo do sangue, inoculação deste em animal sensível, xenodiagnóstico), tudo indicava o papel etiológico do *Schizotrypanum Cruzi* na produção desses "megas".

Contra essa doutrina, que encontrou uma explicação na interpretação patogenética das manifestações crônicas da doença de Chagas, dada por KOEBERLE e sua escola de Ribeirão Preto, se opõe a opinião de MAGARINOS TORRES, que admite, nos casos estudados haja apenas a coincidência da forma crônica da tripanossomose com alguma outra condição mórbida, provavelmente *reliquat* de uma infecção por vírus. Apoia MAGARINOS TORRES sua firme convicção entre outras considerações, na circunstância de que em várias regiões bem estudadas de endemia chagásica, esta não é acompanhada da ocorrência frequente de mega-esôfago, mega-cólon e outros "megas".

De um ou de outro modo, era de prever que um factor local estivesse em causa na produção dessas condições mórbidas, tão frequentes são elas em certas áreas do Brasil Central, em contraste com o que ocorre em outras regiões do Globo. Para ilustrar esse contraste, relataremos que, no Hospital de Eppendorf, em Hamburgo, nos procuramos informar, de um colega especializado no assunto, de quantos casos observara de mega-esôfago. A resposta foi de que tivera ocasião de examinar uma dezena. Enquanto isso, há clínicos do Triângulo Mineiro que já têm milhares de observações da mesma afecção.

OS FENÔMENOS DE IMUNIDADE NA DOENÇA DE CHAGAS

Os primeiros estudos sobre a imunidade na doença de Chagas foram os realizados em Manguinhos por CEZAR GUERREIRO e ASTROGILDO MACHADO, em 1913, visando o diagnóstico sorológico da esquizotripanose. Aplicaram eles à tripanossomose americana o método de Bordet e Gengou do desvio do complemento, instituindo uma técnica, hoje larga e correntemente adoptada, que é conhecida sob o nome de "reacção de Guerreiro-Machado". A princípio, era essa reacção praticada, utilizando-se como antígeno um extracto de órgão de cães de 1 a 3 meses de idade, infectados com o *Schizotrypanum Cruzi*. Primeiro foi usado o coração e, depois, firmada a técnica com o uso de extractos de baço. A escolha era feita pela riqueza de formas leishmânia nos tecidos. Mais tarde, quando se evolveram processos de cultivo que permitiram obter *in vitro* grandes quantidades de corpos do tripanossomídeo, praticamente puros e isentos de substâncias estranhas (como nos meios de cultura de JULIO MUNIZ e GILBERTO DE FREITAS), foi com essas culturas que se passou a preparar o antígeno.

Em 1944, ao assumir no Instituto Oswaldo Cruz a chefia da Divisão para Estudo das Grandes Endemias, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA passou a chefia da Secção de Protozoologia a JULIO MUNIZ, este vindo a se ocupar de uma série de pesquisas sobre o *Schizotrypanum Cruzi* e a esquizotripanose, tendo em vista sobretudo as questões de imunidade e as relações desta com a patogenia da doença. De tal modo se desincumbiu JULIO MUNIZ da tarefa, que grande parte dos conhecimentos que hoje possuimos sobre essa matéria, a ele os devemos e ao grupo de colaboradores e auxiliares que em torno de si, em diversas épocas, reuniu: EMMANUEL DIAS, GILBERTO DE FREITAS, MIREILLE CARNEIRO FELIPPE DOS SANTOS, ROSTAN SOARES, JOSÉ GOMES DE SOUZA, SEBASTIÃO BAPTISTA, ATTÍLIO BORRIELO, LIÈGE GALVÃO QUINTÃO, JOSÉ CUNHA e DALILA CHAGAS QUEIROZ.

Desses estudos resultaram trabalhos de JULIO MUNIZ e GILBERTO DE FREITAS, sobre as reacções de aglutinação e de desvio do complemento na doença de Chagas, bem como sobre o isolamento de fracções polissacarídeos de *Schizotrypanum Cruzi* e de outros tripanossomídeos; de JULIO MUNIZ e ATTÍLIO BORRIELO, sobre a acção lítica de diferentes soros sobre as formas de cultura e sanguícolas do esquizotrípano; de JULIO MUNIZ e GENARD NOBREGA, sobre ensaios de vacinação preventiva e curativa nas infecções pelo *Schizotrypanum Cruzi*; de JULIO MUNIZ sobre a reacção de preci-

pitina na doença de Chagas; de JULIO MUNIZ, ROSTAN SOARES, LAURA QUEIROGA e SEBASTIÃO BAPTISTA, sobre a evolução da imunidade humoral em cães infectados pelo *Schizotrypanum Cruzi*; de JULIO MUNIZ e MIREILLE CARNEIRO FELIPPE DOS SANTOS, sobre anticorpos heterófilos na tripanossomose americana; além de outros que vêm mencionados em várias partes da presente publicação.

A HEMÓLISE CONDICIONADA

Foi estudando a maneira de se comportarem as hemátias, quando sensibilizadas pelas fracções reagindo como polissacarídeos do *Schizotrypanum Cruzi* em cultura artificial, que JULIO MUNIZ foi levado a descobrir um fenômeno novo e até então não descrito, a que deu o nome de *hemólise condicionada*. Depois de tê-lo descrito em várias publicações, outros autores vieram a observá-lo em relação a diferentes espécies de doenças infectuosas e a diversos microrganismos. Esse "fenômeno de Muniz" foi por ele descrito a princípio nos seguintes termos:

"No decorrer de ensaios visando simplificar a técnica da hemoaglutinação com o fim de utilizá-la no diagnóstico de casos crônicos da *Trypanosomíasis americana*, o Autor pôde verificar que hemátias desses doentes, quando previamente adsorvidas com a fracção polissacarídeo do *Schizotrypanum Cruzi* e postas em presença dos próprios soros não inactivados, sofriam hemólise. Idêntico facto pôde ser observado em coelhos imunizados com formas de cultivo desse parasito.

"Ao contrário da hemólise específica decorrente da acção directa de um sensibilizador hemolítico sobre os componentes do próprio glóbulo, no caso aqui estudado ela decorre da acção de um sensibilizador específico para a fracção adsorvida, que reagindo com ela em presença da alexina, ocasiona a hemólise. A esse fenômeno que constitui um caso particular dentro das reacções de imunidade, o autor denominou *Hemólise condicionada*.

"A possibilidade de tal facto constituir uma característica peculiar a essa fracção do *Schizotrypanum Cruzi* continua a ser investigada".

Mais tarde referiu-se JULIO MUNIZ ao fenômeno que descobrira, dizendo:

"É assim que, estudando a maneira de se comportar das hemátias, quando sensibilizadas com essa fracção [polissacarídeo] e postas em presença de um soro imune-específico ou de portadores de tripanossomíase americana, MUNIZ observou a ocorrência de hemólise, desde que a fracção lábil do complemento não fosse destruída, caso contrário ocorreria aglutinação.

"Este facto, que era então observado pela primeira vez na prova de aglutinação, foi logo depois constatado por S. FISCHER e E. V. KEOGH (1950), trabalhando com o *Haemophilus pertussis* e posteriormente por inúmeros autores com diversos microrganismos.

"A possibilidade de obter-se a destruição de um elemento celular pela simples sensibilização com um componente capaz de reagir com um anticorpo específico, sem interferência directa da composição antigênica desse elemento, representou para nós, nova via para melhor compreensão da acção patogênica do *S. Cruzi* no organismo humano, no qual as reacções do tipo de hipersensibilidade desempenham papel da maior importância conforme demostraram experimentalmente MUNIZ e PENNA-DE-AZEVEDO (1947)".

A POLÊMICA SOBRE DOENÇA DE CHAGAS NA ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

Foi grande a repercussão da descoberta de CHAGAS, não só no Brasil como nos meios médicos e científicos internacionais, colocando seu autor em posição ímpar entre seus colegas brasileiros. Essa circunstância o indicava de modo insofismável para a sucessão de OSWALDO CRUZ, em Manguinhos, o que ocorreu por morte deste em 1917. Essa herança, a que outros pretendiam, suscitou reacções daqueles que viam frustradas suas pretensões, que em outras condições seriam talvez perfeitamente cabíveis e justificáveis. Acresce que a necessidade de uma revisão de conceitos relativos ao ciclo evolutivo do *Schizotrypanum Cruzi* e à inclusão de certas síndromes no quadro clínico da doença de Chagas, forneciam ponto de partida para as críticas e, em breve, para os ataques que esses descontentes não tardaram a desencadear. A princípio, foi a sorrate que tais contraditas se manifestaram. Pouco a pouco, porém, foram elas aparecendo mais às claras e por fim vieram a público em escritos e manifestações verbais divulgadas pela imprensa médica e leiga.

Essa fase da polêmica teve início na Sociedade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro, por ocasião da posse, como membro daquela associação, de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO. Foi então que esse ilustre pesquisador fez referência a uma suposta "verdade histórica", relativa à descoberta do *Schizotrypanum Cruzi*, enquanto FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, ao pronunciar o discurso com que recebia o seu colega, aludiu ao facto de ter este último mostrado que as formas descritas como de gametogonia daquele tripanossomídeo, na realidade não pertenciam ao ciclo evolutivo desse protozoário e, sim, representavam um parasito diferente. Na sessão seguinte, BELISÁRIO PENNA, comentando essas alusões, convidou FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS a com ele discutir o assunto da prioridade da descoberta do *S. Cruzi*. Daí resultou a tréplica de FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS (*Molestia de Cruz e Chagas*, Rio, 1919), em que este pretendeu transferir tal mérito para OSWALDO CRUZ. A essa tréplica, CARLOS CHAGAS respondeu pelas colunas do *Jornal do Commercio*, a questão tendo motivado outras intervenções na Sociedade de Medicina e Cirurgia.

Poucos anos depois, em 30 de Novembro de 1922, FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS tomava posse como membro da Academia Nacional de Medicina, sendo recebido por AFRÂNIO PEIXOTO, cujo discurso de saudação foi um diatribe contra CHAGAS e o Instituto Oswaldo Cruz, e no qual, dirigindo-se a VASCONCELLOS, entre outras coisas, disse:

"Poderieis ter achado alguns mosquitos, inventado uma doença rara e desconhecida, doença de que se falasse muito, mas quase ninguém conhecesse os doentes, encantonada lá num viveiro sertanejo de vossa província, que magnanimamente distribuirieis por alguns milhões de vossos patrícios, acusados de cretinos. Poderieis ter feito uma reforma sumptuária, gastando cinco vezes mais que OSWALDO CRUZ, para fazer cincoenta vezes menos..." E por aí continuava.

Na sessão de 14 de Dezembro seguinte, o Presidente da Academia, Professor MIGUEL COUTO, comunicava à Casa ter recebido de CARLOS CHAGAS uma carta, pedindo que aquela douta corporação, através de uma comissão para isso designada, se pronunciasse sobre vários tópicos da controvérsia. Consistiam estes em saber-se se a esquizotripanose era ou não uma nova entidade mórbida bem determinada; se as pesquisas a respeito realizadas por CHAGAS e seus colaboradores o tinham sido com rigor científico, sendo ou não merecedoras de crédito; se a descoberta dessa doença foi ou não um facto de grande alcance científico; se a doença representava ou não um problema médico e social; e, por fim, se a Academia mantinha o mesmo conceito que a fez receber em seu seio o descobridor. Com dignidade e altivez, não incluiu CHAGAS entre as questões a se discutirem a da prioridade da descoberta do *Schizotrypanum Cruzi*, aliás, nunca contestada em vida de OSWALDO CRUZ, pois não poderia admitir que sequer se pensasse ter ele se apropriado do feito de outrem. Por isso mesmo, em sua conferência final, nem uma vez pronunciou os nomes de HENRIQUE ARAGÃO e de FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS ou a ambos fez qualquer alusão.

Após prolongadas discussões, uma vez aprovado o requerimento de CHAGAS, MIGUEL COUTO designou a comissão solicitada, a qual ficou constituída dos Acadêmicos ALFREDO DO NASCIMENTO, presidente, HENRIQUE DUQUE e AFFONSO MACDOWELL, não tendo aceito a designação os Acadêmicos EDUARDO MEIRELLES e ARTIDÔNIO PAMPLONA. A Comissão foi depois acrescida de JOAQUIM MOREIRA DA FONSECA para substituir os dois resignatários.

Depois de quase um ano de estudos, durante os quais examinou cerca de quarenta doentes e acompanhou as pesquisas sobre tais pacientes realizadas, inclusive a necrópsia de um que sucumbiu à infecção, os membros da Comissão elaboraram seu relatório e a questão voltou ao plenário da Academia. As sessões semanais que se realizaram de 8 de Novembro a 6 de Dezembro de 1923, foram preenchidas por essa memorável discussão. Depois de, com seu discurso, ter desencadeado a disputa, dela inexplicável e indesculpavelmente se afastou AFRÂNIO PEIXOTO, deixando sós, para defender a sua tese, a FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS e PARREIRAS HORTA, a quem fizera seus representantes. No campo oposto, também sozinho, ficou CLEMENTINO FRAGA, que, tendo conhecimento dos aspectos clínicos da tripanossomose, pois fora a Lassance estudá-la, tomara a si o encargo de defender a obra de CHAGAS. Este, não desejando e, talvez mesmo não devendo, tomar parte na polêmica, levando-nos em sua companhia, partiu para uma longa cavalgada de três semanas pelo nordeste de Minas Gerais e as margens do Jequitinhonha até quase o limite com a Bahia, só de lá voltando no próprio dia em que pronunciou a conferência com a qual silenciou para sempre seus contraditores.

Em meio da discussão, surgiram várias cartas enviadas por pessoas que, não sendo então membros da Academia, não podiam tomar parte nos debates. Entre elas, uma era firmada pelo pesquisador venezuelano ENRIQUE TEJERA, já então bem conhecido nos meios científicos por ter descoberto em 1920 uma terceira espécie de tripanossomídeo de "barbeiros", o *Trypanosoma Rangeli* (além do *S. Cruzi*, a outra era o *Trypanosoma*

conorrhini descrito por DONOVAN em 1909) que mais tarde se verificou produzir uma infecção natural no Homem. Também MAGARINOS TORRES e nós tivemos que vir em apoio a CLEMENTINO FRAGA, com duas missivas tratando os aspectos anátomo-patológicos e parasitológicos da questão. Estas cartas foram lidas por FRAGA no plenário da Academia. Nelas discutimos vários pontos da exposição feita por PARREIRAS HORTA, pontos que nos pareciam estar exigindo comentário ou rectificação. O *Boletim da Academia* publicou esses diferentes documentos, bem como o relatório da Comissão, o qual apoiava inteiramente as idéias de CHAGAS. A esse relatório, aduziu ALFREDO DO NASCIMENTO SILVA longas e ponderadas considerações e comentários, mostrando que, em sua dissertação, PARREIRAS HORTA provara a larga disseminação dos triatomíneos infectados pelo *Schizotrypanum Cruzi* desde os Estados Unidos até a República Argentina, mas não trouxera quaisquer argumentos a favor de sua tese de que, a essa larga distribuição dos transmissores, não correspondia uma paralela disseminação da doença de Chagas.

Quanto à questão da extensão da endemia chagásica no Brasil e em outras partes da América, assunto sobre o qual a princípio a Comissão não se julgara apta a opinar, a carta de ENRIQUE TEJERA, relatando o encontro de casos humanos comprovados da esquizotripanose na Venezuela, já dava cabal resposta. CHAGAS, aludindo à excursão em que o acompanhamos, em sua conferência acrescentou: "... e, neste momento, eu regresso de uma excursão em que me foi dada oportunidade de verificar a doença em cinco largos municípios de Minas, a grande distância da sede de meus estudos iniciais".

A todas essas sessões da Academia Nacional de Medicina acudia uma verdadeira multidão, composta não só de médicos e estudantes de medicina, como também de um público culto que não se queria deixar ficar alheio a tão importantes debates científicos que envolviam o prestígio do Instituto Oswaldo Cruz e versavam matéria de alta relevância sob os pontos de vista médico, social e econômico para o País.

E, assim, se encerrou uma ingrata disputa a que se deixaram arrastar, no campo oposto a CHAGAS, algumas personalidades de mérito incontestável, mas a quem a paixão fez perder a serenidade que deles se tinha o direito de esperar. Com a perspectiva que nos permitem os cinquenta anos já passados de todos esses factos, não é difícil com justiça apreciá-los. Acresce que o tempo se encarregou de afastar em sua quase totalidade as objecções e de abater os argumentos que contra a obra de CHAGAS naquela época se levantaram: que a tripanossomose não atingia os adultos nem se observava nos hospitais das grandes cidades onde é atendida boa parte da população rural; que é muito limitado o número de casos observados mesmo no interior do País; que a acção patogênica do esquizotrípano é muito reduzida ou nula; e outras afirmações equivalentes que tinham origem no desconhecimento ou na distorção dos factos observados.

MALÁRIAS

Muitas foram as contribuições trazidas por técnicos de Manguinhos ao conhecimento da malária, ou melhor, das malárias do Homem, bem como ao das infecções do mesmo grupo que ocorrem em outros animais, dentre as quais as malárias das aves.

Desde o início das actividades do Instituto Oswaldo Cruz, ao seu director e a vários de seus colaboradores, preocupava o problema da malária, que, em consequência da desatenção dos governantes e da discontinuidade administrativa, continua a grassar em várias regiões do Brasil.

Por isso mesmo, OSWALDO CRUZ pessoalmente se ocupou do estudo dos transmissores, dos mosquitos culicídeos, e, em particular, dos pertencentes à tribo *Anophelini* que transmitem as malárias do Homem. Como em outra parte deste trabalho relatamos, a primeira tarefa que a ROCHA-LIMA coube executar em Manguinhos foi a de desenhar uma asa de mosquito. Ao passo que OSWALDO CRUZ descrevia então os gêneros *Chagasia* e *Manguinhosia*, CARLOS CHAGAS descobria outras espécies de mosquitos e em vários pontos do interior do país se entregava aos trabalhos de profilaxia e de combate à malária.

Desses trabalhos de campo realizados por CHAGAS resultou a importante contribuição que ele veio a trazer para a epidemiologia da doença, a *doutrina da infecção domiciliar da malária*, base que é hoje de toda a luta contra essa doença. De facto, até princípios do século, e mesmo alguns decênios adentro dele, o combate ao impaludismo se fazia

sobretudo na base das grandes obras de engenharia, saneando-se as diferentes regiões pela drenagem dos pântanos, dragagem e canalização dos rios e trabalhos outros de engenharia, empreendimentos todos esses que importavam em estudos prolongados e avultadas despesas. As observações de CHAGAS cedo conduziram-no à convicção de que as nuvens de anofelinas que, em muitas regiões palúdicas por ele estudadas, ao crepúsculo vesperal se levantam das terras alagadas e de outros focos larvários e se dirigem para os povoados ou casas isoladas, pouca ou nenhuma importância epidemiológica têm, uma vez que não estão ainda infectadas pelos plasmódios das malárias humanas. Começam esses mosquitos a ser perigosos somente depois de penetrarem nas casas, onde poderão sugar pessoas que tenham no sangue periférico os gametócitos ou formas sexuadas dos parasitos do impaludismo. Nas casas, as fêmeas dos anofelinos, cheias de sangue e pesadas demais para voarem, se deixam ficar o tempo suficiente para, se infectadas, nelas se desenvolverem os plasmódios que, eventualmente, serão transmitidos a indivíduos sãos por ocasião de novas picadas do mosquito. A profilaxia deve, portanto, ser dirigida não contra os mosquitos que vêm do mato, mas, sim, contra os que estão nas casas e que serão eventuais responsáveis pela produção de novos casos de malária.

Orientado nesse sentido, realizou CHAGAS experiências de campo, utilizando os insecticidas de que então se dispunha e que eram representados principalmente pelo enxofre e pelo piretro, queimados no interior das habitações. Com tais meios de acção, os resultados não podiam deixar de ser transitórios e incompletos, porquanto terminado o expurgo, nada restava dos insecticidas empregados e a casa estava aberta a novas invasões de mosquitos que impunemente atacariam seus moradores. A situação, porém, modificou-se radicalmente ao se introduzirem os novos insecticidas de acção residual que, uma vez aplicados às paredes, móveis e adornos das casas, longe de serem prontamente eliminados continuam a exercer sua acção por vários meses. E' o caso do DDT, que, aplicado, continua a matar os insectos que com ele entram em contacto, ao penetrarem nas habitações. Daí por diante, a doutrina da infecção domiciliar entrou a orientar toda a profilaxia, abandonaram-se quase por completo os trabalhos de engenharia e passou-se a fazer apenas a dedetização das casas. Ficou, porém, ainda um problema, o das regiões do Brasil em que as casas praticamente não têm paredes ou têm uma só parede e onde, portanto, não há onde aplicar o insecticida, não há quase o que dedetizar. E' o caso da Amazônia. O caboclo da Amazônia, índio puro aculturado ou mestiço, de sangue e de cultura em grande parte indígenas, mora em casas que geralmente têm apenas uma parede, sendo abertas de todos os outros lados. Aí não tem cabimento o emprego de insecticidas de acção residual, e o recurso é utilizar o processo imaginado e posto em execução por MÁRIO PINOTTI, o uso compulsório dos antimaláricos de acção preventiva. Isso automaticamente se consegue, misturando-os a um produto alimentar de uso geral e praticamente insubstituível: é o método Pinotti de luta antimalárica pelo sal cloroquinado, obrigatoriamente substituindo o sal ordinário nas áreas malarígenas trabalhadas.

Uma descoberta de grande importância prática, no terreno da profilaxia da infecção malárica do Homem, foi a de ARTHUR NEIVA, que, em 1910, foi o primeiro a dar uma demonstração positiva da existência de estirpes de plasmódios resistentes aos antimaláricos, assunto hoje plenamente em foco no que se refere às tetra-amino-quinoleínas. No tempo em que NEIVA registou o facto, o antimalárico por excelência era a *quinina*. Tratava-se, pois, de resistência à *quinina*.

Antes de NEIVA, a acuidade de observação e o tino clínico de MIGUEL COUTO já o tinham feito perceber a existência desse tipo de resistência medicamentosa dos parasitos das malárias. Por isso, o grande médico fora levado a introduzir o azul de metileno no tratamento do impaludismo, o que ele fizera sem dúvida influenciado pelos trabalhos anteriores de EHRLICH. Que estava no caminho certo, bem o demonstram os factos subsequentes, uma vez que foi a partir do azul de metileno que se veio a descobrir mais tarde um outro antimalárico altamente eficaz, a atebrina.

Em 1908 fora NEIVA encarregado de chefiar os serviços de profilaxia da malária, durante a construção da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil e lá ficou "10 meses passados naquele inferno". Mas, as observações de NEIVA, realizadas em grande escala na região do Xerém, por ocasião da captação das águas desse rio, para reforço do abastimento da cidade do Rio de Janeiro, é que foram executadas de modo a não deixarem dúvidas sobre o assunto, como bem assinalou o seu autor, ao escrever: "Raras vezes terá havido ocasião de se observar cuidadosamente um material humano tão abundante e em condições correspondentes quase às de uma pesquisa de laboratório, como a que nos levou a fazer esta comunicação".

Em relação a espécies de plasmódios do Homem, vale a pena recordar ainda o que está registado no trabalho de CHAGAS sobre a "Epidemiologia

do Vale do Amazonas", incluído no Relatório de OSWALDO CRUZ.

Além dessas, outras contribuições foram trazidas por pesquisadores de Manguinhos ao estudo epidemiológico da malária em várias regiões do Brasil. Consistiram elas sobretudo em novos dados de ordem taxonômica, bio-geográfica e bionômica sobre anofelinas brasileiras e de países vizinhos, do que se ocuparam, além de OSWALDO CRUZ e CARLOS CHAGAS, principalmente ARTHUR NEIVA, GOMES DE FARIA, COSTA-LIMA, ANTONIO PERYASSÚ e CESAR PINTO. Observações ecológicas de várias ordens e estudos relativos às relações entre vegetação e fauna culicidiana e particularmente anofelínea, foram objecto de muitos trabalhos de OLIVEIRA-CASTRO, de MÁRIO ARAGÃO e de HENRIQUE VELLOSO, alguns deles referentes aos anofelinos do gênero *Kertezsia* e suas relações com as bromeliáceas, no litoral sul do Brasil. Lembraremos que não foi somente em Manguinhos que, no Brasil, se realizaram tais estudos. Importantes pesquisas sobre mosquitos ocorreram em São Paulo, praticadas por AYROSA GALVÃO, ANTUNES, OVÍDIO UNTI, LANE, FLÁVIO DA FONSECA e outros, no Pará por EMILIO GOELDI, LEÔNIDAS e MARIA P. DEANE, e em diversos pontos do Brasil pelos pesquisadores da Fundação Rockefeller que cooperaram na solução dos problemas brasileiros relacionados com a profilaxia da malária: SHANNON, BOYD, ROOT, DAVIS, CAUSEY, KUMM, entre outros.

Nas pesquisas sistemáticas feitas sobre hematozoários de diferentes animais capturados e trazidos ao laboratório, foram por vezes encontradas novas espécies de plasmódios.

Assim, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e ARTHUR NEIVA descreveram *Plasmodium diploglossi* e *P. tropiduri*, parasitos de lagartos.

JULIO MUNIZ ocupou-se com o estudo de plasmódios de aves brasileiras, deles descrevendo várias novas espécies.

Em Manguinhos são conservadas até hoje por passagem em animal as estirpes de *Plasmodium gallinaceum* que, em 1945, trouxemos dos laboratórios de BRUMPT, em Paris, e de RODHAIN, em Antuérpia. Têm essas amostras servido para investigações não só de técnicos de Manguinhos, entre eles LOBATO PARAENSE, como para as de pesquisadores de outras instituições a que foram elas distribuídas.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E LEISHMANIOSE VISCERAL

São de diversas ordens as contribuições trazidas pelos técnicos de Manguinhos para o conhecimento das leishmanioses. As primeiras em data versaram a leishmaniose tegumentar, cujo diagnóstico clínico no Brasil antecedeu a própria descoberta das leishmânias. De facto, antes de se conhecer a existência desses protozoários, já observadores da Escola da Bahia haviam identificado com o botão de Biskra ou do Oriente certas dermatoses ulcerosas que encontravam. Assim, ALEXANDRE CERQUEIRA já teria assinalado a identidade dessas duas doenças e JULIANO MOREIRA expressamente deu o nome de "botão da Bahia" ao tipo de úlcera cutânea que vinha observando naquele Estado do Norte. Propriamente como leishmaniose, todavia, a doença só foi diagnosticada no Brasil em 1909, em São Paulo, quando ADOLPHO LINDENBERG encontrou os parasitos específicos, naquilo que se vinha chamando "úlcera brava" ou "úlcera de Bauru", de que muitos casos se observavam entre as pessoas que, desbastando a floresta, trabalhavam na construção da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil. Daí por diante, o diagnóstico de leishmaniose tegumentar passou a ser firmado parasitologicamente em São Paulo, no Rio de Janeiro, na Bahia, na Amazônia e, com o tempo, em muitas outras partes do Brasil e de outros países da América do Sul. Na República Argentina foi ARTHUR NEIVA, em colaboração com BELARMINO BARBARÁ, quem comprovou a extensão da doença no norte do país, onde a leishmaniose já fora diagnosticada por GUILLERMO PATTERSON e por ETCHEVERRY.

Em 1911, graças às técnicas de fixação e coloração que empregava, GASPAR VIANNA, em Manguinhos, descobriu nas formas de leishmânia encontradas entre nós um curto filamento, que se origina na parte média do cinetoplasto e termina na superfície externa do protozoário. Esse filamento em que GASPAR VIANNA reconheceu "talvez rudimento de flagelo", é o axonema ou rizonema que de facto se prolongará para o exterior sob a forma de flagelo livre se as condições mesológicas para isso forem favoráveis. Nesse carácter que não tinha ainda sido assinalado nas leishmânias por outros autores, se baseou GASPAR VIANNA para estabelecer como espécie nova a sua *Leishmania braziliensis*. Mais tarde se veio a comprovar que a existência de um rizonema é carácter geral das leishmânias

que até então passara despercebido. Mas essa verificação não invalidou a espécie criada por VIANNA, porquanto esta se distingue da produtora do botão do Oriente, da *Leishmania tropica*, pela acção patogênica diversa, produzindo-se na forma americana uma doença mais grave, que não tem tendência à cura espontânea e que se complica de lesões das mucosas da boca, do nariz e da laringe, e até da traquéia, mais resistentes aos meios usuais de terapêutica que as lesões cutâneas.

Foi, porém, no capítulo da terapêutica que, a partir de 1912, GASPAR VIANNA trouxe uma contribuição de valor inestimável para a solução do problema que as leishmanioses representam. Transcrevemos aqui trecho de um dos trabalhos (*Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia*, 1914, II (6): 167-169) em que esse autor apresenta os resultados do emprego dos antimoniais no tratamento dessas doenças. Diz GASPAR VIANNA:

"Após os primeiros insucessos que nos proporcionou o emprego dos preparados de Ehrlich" [o autor se quer referir ao 606 e ao 914] "inquirimos do valor curativo do emético, dada a sua acção em tripanossomose.

"A princípio os resultados colhidos não nos permitiam uma conclusão, visto a disparidade com que se apresentaram. Enquanto que os doentes de lesões cutâneas eram rapidamente curados, os de mucosas pouco melhoraram no mesmo espaço de tempo. Deste facto se quis logo concluir a ineficácia da medicação em formas mucosas e ainda há bem pouco tempo, na Soc. de Medicina e Cirurgia de São Paulo, vimo-nos citado como afirmando essa conclusão. Nas raras vezes que nos temos ocupado na Soc. Brasileira de Dermatologia, do tratamento da leishmaniose tegumentar, mostramos sempre casos de cura das formas mucosas. Na própria comunicação inicial referimos a cura de lesões cutâneas e da mucosa nasal. Os resultados benéficos do emprego de injecções intravenosas de tártaro emético na leishmaniose entre nós observada, estão a coberto de interpretações pessoais pois se baseiam em factos perfeita e definitivamente estabelecidos".

O tratamento da leishmaniose, pelo tártaro emético, foi logo estendido ao cala-azar, em 1914, por ALDO CASTELLANI em Ceilão. Em 1915, ROGERS e ROGERS e HUME o empregaram na Índia para a mesma doença e, em 1916, CHALMERS o utilizou no Sudão para a leishmaniose visceral lá observada. "Daí por diante", escrevem CASTELLANI e CHALMERS "passou a ser este o método reconhecido de tratamento das leishmanioses". É preciso notar que o prognóstico das leishmanioses viscerais, antes da introdução dos antimoniais por GASPAR VIANNA, era sempre altamente desfavorável, a mortalidade sendo de 70% e às vezes atingindo 98%. Após o uso da nova medicação a mortalidade baixou para cerca de 20%.

É certo que com o tempo novos antimoniais foram introduzidos no tratamento das leishmanioses, os quais não têm alguns dos inconvenientes que apresenta o tártaro emético. Mas também é fora de dúvida que foi GASPAR VIANNA quem, empregando aquele clássico medicamento, abriu uma nova era no tratamento e no prognóstico dessas doenças. O emprego dos arsenicais pentavalentes, iniciado por AGUIAR PUPO em São Paulo, veio oferecer um recurso valioso para vencer a resistência que as formas mucosas de leishmaniose tegumentar às vezes oferecem à acção terapêutica.

Outro êxito obtido em Manguinhos no estudo da leishmaniose tegumentar americana foi a demonstração dada por HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, da transmissão da doença pelos dípteros hematófagos do gênero *Phlebotomus*. Partindo de flebótomos experimentalmente infectados pela picada em indivíduos portadores de lesões de leishmaniose tegumentar, e injectando a emulsão preparada pela trituração desses insectos com solução fisiológica de cloreto de sódio, conseguiu ARAGÃO produzir no focinho de cães ulcerações em que as formas de leishmânia eram encontradas. Esses trabalhos foram repetidos com igual sucesso em São Paulo, no Instituto Butantã, por FLÁVIO DA FONSECA, enquanto em Manguinhos MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ conseguiam obter no macaco "rhesus" lesões nasais, análogas às que se observam nos casos humanos de leishmaniose das mucosas.

A história dos estudos sobre a leishmaniose visceral no Brasil, embora já bem conhecida, merece aqui uma referência especial.

A existência da doença já era suspeitada por vários pesquisadores, JOÃO FRÓES, na Bahia, tendo escrito sobre o assunto. OSWALDO CRUZ e CARLOS CHAGAS a procuraram em vão durante suas viagens à Amazônia em 1910 e 1913, respectivamente. Mas, a prova de sua existência na América, só foi dada em 1913, por LUÍS MIGONE que encontrou formas de leishmânia nas vísceras de um indivíduo morto em Asunción, no Paraguai, mas que residira por muito tempo em Mato Grosso, Brasil. Essa observação, entretanto, se não passou despercebida, foi por alguns erroneamente interpretada como se referindo a formas leishmanióides de *Schizotrypanum Cruzi*. Anos mais tarde, em 1926, SALVADOR MAZZA e CORNEJO ÁRIAS observaram dois casos de leishmaniose visceral infantil na província de Salta, no norte da República Argentina.

Na mesma província, em 1934, INDA, VIVOLI e VACCAREZZA, realizaram o estudo anátomo-patológico de um caso de necrópsia em adulto.

Mas, as dúvidas persistiram ainda, até que em 1934, como um achado, nos fragmentos de fígado colhidos por viscerotomia para diagnóstico *post-mortem* de febre amarela, HENRIQUE PENNA, então médico do Serviço de Febre Amarela da Fundação Rockefeller, encontrou leishmânias em cerca de um por mil dos casos examinados. Contando-se já por várias dezenas esses achados, foi constituída no Instituto Oswaldo Cruz, sob a chefia de EVANDRO CHAGAS, uma comissão integrada por ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO e LEOBERTO CASTRO FERREIRA. Na República Argentina era membro correspondente da comissão o médico e pesquisador CECÍLIO ROMAÑA. Os trabalhos da comissão foram possibilitados graças à munificência do ilustre homem de empresa GUILHERME GUINLE que custeou todas as despesas dela decorrentes. Os membros dessa comissão dirigiram-se para os sertões do Norte e do Nordeste do Brasil, visitando as habitações que os estudos de viscerotomia de HENRIQUE PENNA indicavam como sendo aquelas donde provinham os casos fatais de leishmaniose por ele diagnosticados. O sistema adoptado parecia o mais lógico e, de facto, deu logo o resultado de se encontrarem os casos clínicos de leishmaniose visceral e de se possibilitar o estudo dos pacientes e o seu conveniente tratamento. Para esse trabalho, muito concorreu a Força Aérea Brasileira (FAB) fornecendo à comissão meios de transporte em aviões especiais que permitiram atingir pontos remotos do Norte e do Nordeste do País.

A princípio se acreditou pudesse a leishmaniose visceral americana distinguir-se do cala-azar indiano e do cala-azar infantil observado na África e na área do Mediterrâneo. Chegou-se mesmo a dar ao parasito observado no Brasil o nome de *Leishmania Chagasi* em homenagem a CARLOS CHAGAS. Logo, porém, sobrevieram as dúvidas e hoje é de consenso geral que se trata da mesma forma do Mediterrâneo, esta mesma mal se podendo distinguir da observada na Índia. É que na realidade, como há muito vimos insistindo em relação a este e a outros tripanossomídeos, trata-se aqui antes de "populações" e não estrictamente de "espécies" de parasitos. Tais "populações", sobretudo quando espalhadas em vastas regiões, se podem diferenciar em sub-espécies geográficas que ora bem se distinguem das encontradas em diferentes áreas, ora, ao contrário, se confundem em uma espécie única bem definida. As leishmânias, como o *Schizotrypanum Cruzi*, parecem realmente estar nesse caso.

Assim, a denominação *chagasi*, como já é agora aceita por SAMUEL PESSOA, poder-se-á adoptar com a categoria sub-específica, dando-se à forma produtora dos casos americanos de cala-azar, o nome de *Leishmania Donovani Chagasi* EV. CHAGAS *et* MARQUES DA CUNHA, 1937.

No Instituto Evandro Chagas, de Belém, no Estado do Pará, e, depois, no Instituto Oswaldo Cruz, FELIPE NERY-GUIMARÃES realizou muitas pesquisas sobre leishmanioses visceral e tegumentar. Uma de suas mais interessantes contribuições a respeito desta última é a verificação de presença de leishmânias em lesões cutâneas de muitas espécies de roedores silvestres do Brasil. Essa verificação, já anteriormente feita por O. FORATTINI, foi confirmada por vários outros autores em diversos países da América. Embora não esteja demonstrado que se trate nesses casos ou pelo menos em alguns deles da *Leishmania braziliensis*, a sua presença nos roedores se integra no contexto daquelas populações de leishmânias a que linhas acima nos referimos.

TOXOPLASMOSE

Os protozoários que receberam o nome de *Toxoplasma*, pela forma arqueada, em arco, que apresentam, foram descobertos simultânea e independentemente em Tunis por NICOLE e MANCEAUX e em São Paulo, no Brasil, por A. SPLENDORE, em 1908. Depois disso, foram a princípio de novo estudados no Brasil por A. CARINI (1911) em São Paulo, e, em Manguinhos, por JOSÉ BERNARDINO ARANTES que sobre o assunto elaborou sua tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1914. Êsse trabalho era então o mais completo sobre os aspectos patogênicos experimentais do parasito. Encontrado em várias espécies animais (pombo, coelho, cão) em infecções espontâneas, e a outras transmissível experimentalmente, o *Toxoplasma gondii* NICOLLE *et* MANCEAUX, 1909, única espécie reconhecida no gênero, só em 1923 foi verificada por J. JANKU como parasita do homem. Depois do trabalho de JANKU que só o encontrara no globo ocular duma

criança, foram os estudos de MAGARINOS TORRES, em 1927, que chamaram atenção para o assunto, mostrando que o parasita (a princípio considerado por TORRES como pertencendo a um dos gêneros, *Encephalitozoon* ou *Toxoplasma*) era o agente etiológico de uma nova doença humana, em cujo quadro anátomo-patológico se incluiam, entre outras, a hidrocefalia e lesões de meningo-encefalite, e de miocardite. Além de mostrar que se tratava de doença generalizada e sistêmica, TORRES demonstrou que a doença podia ser congênita. Depois do trabalho de TORRES, que pela primeira vez descrevia o quadro da toxoplasmose, vieram os trabalhos de WOLFF e COWEN (1937) que justificadamente situaram o parasito encontrado por TORRES no gênero *Toxoplasma*, e os de PINKERTON e WEIMAN (1940) e de FELIPE NERY-GUIMARÃES (1941-1943), que assinalaram casos de toxoplasmose em adultos, este último autor tendo observado a forma meningo-encefálica em adulto e, com HERTA MAYER, do Instituto de Bio-Física da Universidade Federal do Rio de Janeiro, estudado os toxoplasmas em cultura de tecidos (1941). Esses dois últimos autores verificaram a motilidade do parasito, até então considerado imóvel, e nele descreveram uma organela, a *trombícula* (em 1955 rebaptizada com o nome de *conóide*, por GUSTAFSON e seus colaboradores). NERY-GUIMARÃES e HERTA MAYER demonstraram que é à custa da trombícula que o toxoplasma penetra activamente nas células e delas sai. Também esses dois autores conseguiram transmitir toxoplasma de ave para mamal e julgam que isso represente um argumento a favor da unidade específica. *Toxoplasma* seria um gênero monotípico. As recentes descobertas que mostraram que os toxoplasmas são apenas fase evolutiva de eimerídeos, colocam esta tese *sub-judice*.

A essa conclusão parecem conduzir outros trabalhos de Manguinhos. Assim é que ALEXANDRE ALBERTO DE ALENCAR descobriu em anfíbios dos gêneros *Bufo* e *Leptodactylus* uma toxoplasmose espontânea e inaparente, de que preparados foram mostrados a CESAR PINTO que considerou o organismo produtor como sendo o *Toxoplasma gondii*. Reestudado esse material por SYLVIO CELSO GONÇALVES DA COSTA, foi o protozoário determinado como uma nova espécie de *Lankesterella* que este último autor denominou *Lankesterella Alencari*.

Em Manguinhos, RITA ALVES CARDOSO, NERY-GUIMARÃES e APPARECIDA PINTO GARCIA (1956) publicaram estudos sobre a patologia da forma congênita, demonstrando a presença de toxoplasmas na placenta. De 1968 a 1969, NERY-GUIMARÃES, HELLY LAGE, NOÊMIA GRYNBERG e ISMÉLIA VENÂNCIO publicaram seus estudos sobre o diagnóstico da toxoplasmose pela imuno-fluorescência. Também há mais de dez anos, a antiga Secção de Protozoologia, chefiada por NERY-GUIMARÃES, vem fazendo a reacção de Sabin-Feldman para os diagnósticos que lhe são solicitados.

Embora não tenham sido elaborados em Manguinhos, não deixaremos de fazer aqui menção aos excelentes trabalhos publicados sobre toxoplasmose pelo professor SYLVIO ABREU FIALHO.

ANATOMIA PATOLÓGICA

Em outro escrito (*), tivemos oportunidade de fazer o histórico do desenvolvimento, a princípio cheio de atribulações, da pesquisa anátomo-patológica no Brasil e de como ela chegou a implantar-se no Instituto Oswaldo Cruz antes de irradiar para outros pontos do País. Começaremos, pois, abrindo aspas para transcrever parte do que antes escrevêramos sobre os estudos de anatomia patológica em nosso meio:

"É notório que o ensino da histologia normal no Rio de Janeiro só começou a se tornar objectivo e prático quando à cátedra respectiva, em 1890, subiu EDUARDO CHAPOT-PREVOST. Até então, fora ela regida por cirurgiões de valor: FRANCISCO PRAXEDES DE ANDRADE PERTENCE, conselheiro e médico honorário da Imperial Câmara; ANTONIO TEIXEIRA DA ROCHA, Barão de Maceió, médico, esse efectivo, da Imperial Câmara, e ANTONIO CAETANO DE ALMEIDA, cirurgião do Corpo de Saúde do Exército. O próprio título da cadeira, "Anatomia geral e patológica", que prevaleceu até 1864, quando a assumiu o Barão de Maceió, como logo se percebe, era um resquício da influência do genial autor da "Anatomia geral", BICHAT, de quem é bem conhecida a aversão ao microscópio. Mas, BICHAT morrera em 1802. De sua concepção da anatomia geral sem utilização do microscópio, porém, ainda sessenta anos depois restavam vestígios no nosso ensino de histologia.

"Não é, pois, de estranhar que, deficiente por muito tempo o ensino da histologia normal, o fosse também o da histologia patológica. Esta, no Rio

(*) OLYMPIO DA FONSECA, FILHO — 1968 — "Primórdios da microscopia óptica no Brasil. Alguns pioneiros". *Jornal Brasileiro de Medicina*, 14 (2): 133-134.

de Janeiro, só começou a desenvolver-se no princípio do século actual em dois núcleos.

"Num deles, o Hospital Nacional de Alienados, então localizado na Praia Vermelha, onde PEDRO CALMON conseguiu instalar a Reitoria da Universidade do Brasil, a pesquisa anátomo-patológica não teve longa duração. Lá, sob a influência de JULIANO MOREIRA, um dos últimos representantes da velha escola de tropicalistas e parasitológos da Bahia, vieram especializar-se em anatomia e histologia patológicas BRUNO LOBO e GASPAR VIANNA. Dessa fase ficou como testemunho a monografia por eles publicada sôbre a célula nervosa. Mas, BRUNO LOBO cedo abandonou a histo-patologia para entregar-se a outras actividades. Quanto a GASPAR VIANNA, foi ele logo atraído pela obra de organização da pesquisa científica que OSWALDO CRUZ então realizava em Manguinhos.

"Lá, transformado o primitivo Laboratório Soroterápico Federal, criado pelo BARÃO DE PEDRO AFFONSO, em Instituto de Medicina Experimental, e pouco depois denominado Instituto Oswaldo Cruz, foi que realmente se criou e desenvolveu a primeira escola brasileira de anatomia e histologia patológicas. Foram difíceis e acidentados os primeiros quinze anos de sua história.

"Iniciou-a HENRIQUE DA ROCHA-LIMA, que se especializara na Alemanha, tendo sido em Munique assistente do célebre patologista HERMANN DUERCK, aquele que descreveu as lesões cerebrais da malária malígna, que receberam a denominação de *granuloma de Duerck*. De volta a Manguinhos, era ROCHA-LIMA, em 1909, convidado para organizar e dirigir a recém-criada Divisão de Anatomia Patológica do famoso *Institut fuer Schiffs-und Tropenhygiene*, de Hamburgo, que hoje constitui o *Tropeninstitut* e leva o nome de seu fundador, BERNHARDT NOCHT, um dos mais ilustres discípulos de ROBERT KOCH.

"Já era ROCHA-LIMA um patologista de renome internacional, conhecido sobretudo por seus trabalhos sobre as lesões hepáticas na febre amarela. Na Alemanha, lhe estava reservada uma brilhante carreira de pesquisador e de professor. Durante a primeira guerra mundial, realizou seus clássicos estudos sobre o tifo exantemático, os quais culminaram na descoberta do microrganismo específico, que ROCHA-LIMA denominou *Rickettsia Prowazeki*. Mais tarde lhe coube, com MAYER e WERNER, estudar a verruga peruana, cujas lesões histológicas, com seus colaboradores, mostrou ROCHA-LIMA constituirem um granuloma caracterizado por uma proliferação de angioblastos. Já então professor da Universidade de Hamburgo, outros trabalhos sobre blastomicoses, granuloma venéreo e doença de Chagas, realizou na Alemanha ROCHA-LIMA até 1928, quando voltou ao Brasil, pouco tempo depois vindo a assumir em São Paulo a direcção do Instituto Biológico, fundado por ARTHUR NEIVA.

"Mas, o brilho da carreira científica de ROCHA-LIMA na Alemanha, o qual se reflectia no Instituto Oswaldo Cruz, onde realizara seus primeiros estudos e forjara sua reputação, não impedia que se interrompessem os trabalhos de anatomia e histologia patológicas em Manguinhos. Assumiu-lhes o encargo GASPAR VIANNA, tendo sob sua orientação CESAR GUERREIRO e OSCAR D'UTRA E SILVA, este último vindo também do Gabinete de Anatomia Patológica do Hospital de Alienados. Mais tarde, a esse grupo se juntaram CÁSSIO MIRANDA que pouco depois iria fundar e dirigir o Instituto Oswaldo Cruz de São Luís do Maranhão, e JOSÉ BERNARDINO ARANTES, que se fixou em São Paulo.

"Em 1912, OSWALDO CRUZ convidou para uma estada de 6 meses em Manguinhos, o mestre de ROCHA-LIMA, HERMANN DUERCK, cuja influência na formação dos outros patologistas do Instituto praticamente não se fez sentir.

"Por esse tempo, ingressava no Instituto o então estudante de medicina CARLOS BASTOS DE MAGARINOS TORRES que, após o Curso de Aplicação então obrigatório e condição *sine qua non* para admissão nos laboratórios, passara a trabalhar em Lassance com CARLOS CHAGAS e a se ocupar do estudo da esquizotripanose, ao mesmo tempo que preparava sua clássica tese sobre as lesões anátomo-patológicas do coração na doença de Chagas. Todo o meio médico brasileiro conhece o que foi e continua a ser a actividade científica de MAGARINOS TORRES, o nosso maior patologista vivo, que ligou seu nome aos estudos sobre a doença de Chagas, a toxoplasmose humana, a varíola e o alastrim e outros problemas da nossa nosologia.

"Encaminhavam-se, pois, as coisas para uma regularização completa dos trabalhos de anatomia e histologia patológicas do Instituto Oswaldo Cruz. Organizara-se o serviço de necrópsias em um pavilhão adrede preparado ao lado do Hospital Geral da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro e lá se recebiam dos cirurgiões, para diagnóstico histo-patológico, peças retiradas nas intervenções operatórias e fragmentos de tecidos colhidos por biópsia.

"Foi quando a morte de GASPAR VIANNA, em 15 de Junho de 1914, em consequência de infecção adquirida enquanto procedia a uma necrópsia, veio a abalar o Instituto, que assim pela primeira vez perdia um de seus colaboradores científicos e era

privado do orientador dos trabalhos de anatomia patológica, os quais ficavam entregues a um grupo de jovens como ele, dentre os quais se destacavam MAGARINOS TORRES, CESAR GUERREIRO, OSWINO PENNA, CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO e OSCAR D'UTRA E SILVA, tendo este último, companheiro e discípulo de GASPAR VIANNA, pouco depois se afastado para uma missão em São Paulo.

"Estava ainda o Instituto abalado pela perda de GASPAR VIANNA, e mais ainda o estavam os seus serviços de anatomia patológica, quando, em Fevereiro de 1917, desaparece também OSWALDO CRUZ, assumindo a direcção do Instituto um dos seus mais notáveis discípulos, CARLOS CHAGAS, o descobridor da doença que hoje tem o seu nome.

"Uma das primeiras preocupações de CHAGAS foi a de atender à situação dos serviços de anatomia patológica do Instituto, para o que contou desde logo com o auxílio da Fundação Rockefeller.

"Foi assim que CHAGAS pôde fazer vir ao Brasil um competente patologista e um grande organizador, o Dr. BOWMAN C. CROWELL, do Hospital de Bellevue de Nova York, o qual tinha grande experiência de nosologia tropical adquirida em longa permanência nas Filipinas. Chegou CROWELL ao Rio de Janeiro em 1918 e logo em torno de si congregou os patologistas já iniciados do Instituto, MAGARINOS TORRES, CESAR GUERREIRO, OSWINO PENNA e CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO.

"Uma das primeiras e trágicas tarefas que coube a CROWELL desempenhar foi a de necropsiar algumas das primeiras vítimas da pandemia de gripe que grassou no Rio de Janeiro em Outubro de 1918. Enviado de CARLOS CHAGAS, foi o autor destas linhas buscar CROWELL na casa em que residia em Botafogo, e, juntos, ambos convalescentes, fomos proceder à necrópsia dos primeiros cadáveres, dentre os milhares que por toda a cidade se acumulavam, e que tinham sido levados ao pavilhão do Instituto, anexo ao hospital da Santa Casa. Já nos dias seguintes, alguns dos patologistas do Instituto, combalidos ainda pela doença que a quase todos acometia, lá compareciam, dispensando a nossa colaboração que passou a ser dada no hospital em que se transformara, no bairro da Glória, a Escola Deodoro, e nos serviços de produção de soros e vacinas do Instituto, que a pandemia tornara desertos. Foi esse apenas um episódio, sinistro mas passageiro, da história da patologia entre nós.

"A permanência de CROWELL no Brasil foi de cerca de cinco anos, período frutuoso para os estudos de patologia entre nós e, sem receio podemos dizer, para a medicina nacional. Antes de sua vinda a prática das necrópsias apenas se começava a impor e raros eram os clínicos que por elas se interessavam: um JOSÉ DE MENDONÇA, que ROCHA-LIMA em Manguinhos instruira em patologia, cirurgião que necropsiava os seus operados que sucumbiam na modelar clínica por ele chefiada no hospital da Sociedade Portuguesa de Beneficiência, onde servimos como interno e depois como médico adjunto; um SYLVIO MONIZ, senhor de vasta clientela, que raramente faltava às necrópsias no pavilhão anexo da Santa Casa, fossem ou não de seu serviço de clínica médica os casos necropsiados. A esses nomes, poucos mais se poderiam acrescentar. Também a prática das biópsias e o exame histo-patológico das peças retiradas nas intervenções cirúrgicas eram muito pouco difundidos. E, como uma e outro eram necessários! Os arquivos da Secção de Anatomia patológica do Instituto quantos segredos encerra de diagnósticos que, feitos em tempo, tantos dissabores, quando não desastres, teriam evitado aos médicos e aos pacientes.

"Data daí, no Rio de Janeiro, a existência, pelo menos corrente, da colaboração anátomo-clínica, o patologista e o clínico, em sintonia concorrendo para o esclarecimento do diagnóstico".

Embora sejam múltiplas as contribuições originais da Escola de Manguinhos para o conhecimento anátomo-patológico das doenças observadas em nosso País, é fora de dúvida que avultam elas no que diz respeito à febre amarela e à doença de Chagas.

Em outros pontos do presente trabalho, fazemos referência aos estudos fundamentais de ROCHA-LIMA e de MAGARINOS TORRES, sobre a anatomia patológica da febre amarela. A *lesão de Rocha-Lima* sempre observada nos casos avançados daquela doença, e a degeneração oxicromática do núcleo das células hepáticas, *lesão de Magarinos Torres*, com a presença das inclusões nucleares características nas fases mais recentes da infecção, como que representam a assinatura da doença e o rasto de sua passagem pelo organismo.

Também em outra parte nos referimos às lesões histológicas da doença de Chagas, pela primeira vez, e magistralmente, descritas por GASPAR VIANNA e ilustradas por CASTRO-SILVA, depois longamente estudadas por MAGARINOS TORRES e por HENRIQUE DA ROCHA-LIMA. São clássicos os trabalhos de TORRES sobre a patologia da cardiopatia chagásica que, sob o ponto de vista clínico, foi muito bem estudada pelo próprio CARLOS CHAGAS e por EURICO VILLELA, mais tarde por EVANDRO CHAGAS e em seguida por GENARD NOBREGA, FRANCISCO DA SILVA LARANJA e outros médicos de Manguinhos.

Os trabalhos de MAGARINOS TORRES e JOSÉ CASTRO-TEIXEIRA sobre a histo-patologia da varíola e do alastrim vieram trazer novos e importantes

subsídios para a doutrina, a nosso ver acertada, da distinção entre essas duas doenças que se diferenciam pelas manifestações clínicas e pelas lesões produzidas na membrana cório-alantóide do embrião de galinha, o que, também em Manguinhos, foi demonstrado por ANTONIO SOTERO CABRAL.

Sobre a histo-patologia das cromoblastomicoses, as pesquisas de MAGARINOS TORRES e sobre as da blastomicose benígna a que demos o nome de doença ou micose de Lobo, as realizadas por PENNA-DE-AZEVEDO continuam a ser das mais importantes.

Entre os trabalhos de Manguinhos no domínio da patologia nervosa, alguns deles realizados também no Instituto de Neurologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, devem referir-se os de ALEXANDRE DE ALENCAR sobre as pan-encefalites sub-agudas esclerosantes. Em primeiro lugar, foram estes os estudos iniciais realizados no Brasil sobre o que então se considerava como "encefalites atípicas" (formas de Dawson, Van Bogaert e Pette-Doring), já então suspeitadas de serem viroses de evolução crônica. ALENCAR descreveu as alterações nucleares e nucleolares encontradas, pela primeira vez sendo demonstrado nessas doenças o fenômeno da "extrusão dos nucleolinos", i.e., a expulsão, por efeito da infecção viral, de partículas existentes no interior do nucléolo. Pelos trabalhos de ALENCAR também ficou provado que esse fenômeno não ocorre apenas nas pan-encefalites sub-agudas esclerosantes, mas ainda na poliomielite anterior aguda e na raiva, sendo fenômeno geral observado nas neuroviroses.

Como aconteceu em outros sectores de sua actividade, um momento houve em Manguinhos, em que a divisão de patologia contava com elementos competentes nos mais diversos aspectos da anatomia patológica especial. Chefiava a divisão, com sua alta autoridade científica e a experiência de meio século de trabalho na pesquisa anátomo-patológica, MAGARINOS TORRES, que até hoje continua a dedicar-se aos mesmos estudos. Em matéria de patologia do fígado, contava o Instituto com a competência especializada de JOSÉ FRANCISCO MADUREIRA PARÁ, durante muitos anos experimentado no Serviço de Febre Amarela da Fundação Rockefeller, o qual, a partir de 1949 fora transferido para o Instituto Oswaldo Cruz. A patologia fetal e do recém-nato tinha em RITA ALVES DE ALMEIDA CARDOSO uma especialista de alto valor. A histo-patologia da pele contava e continua a contar, em GILBERTO DE AZEVEDO TEIXEIRA, um competente pesquisador que aliava os conhecimentos dermatológicos aos da histologia patológica. O mesmo acontecia e acontece em relação a ALEXANDRE ALBERTO DE ALENCAR, especializado na anatomia patológica do sistema nervoso, assunto em que é provavelmente a maior autoridade em nosso País. A patologia do aparelho genital feminino é o campo especial de estudos de EITEL DUARTE. JORGE DE PAULA DA SILVA GUIMARÃES, estagiário durante três anos do Instituto Nacional de Câncer de Londres, era o especialista de Manguinhos com maior autoridade nas questões relativas ao câncer experimental e à acção biológica das radiações. A hematologia contou até há poucos anos com a actividade e a competência dum pesquisador nato, WALTER OSWALDO CRUZ, que estudou vários aspectos da anemia ancilostomósica e dos processos de coagulação do sangue. ERNÂNI MARTINS DA SILVA foi outro hematologista de Manguinhos que deixou vestígios permanentes de sua passagem pelo Instituto.

Além destes pôde a Divisão de Patologia contar com OSWINO PENNA, PENNA-DE-AZEVEDO, CARLOS BURLE DE FIGUEIREDO, todos, como MADUREIRA PARÁ, hoje desaparecidos.

BOUBA E PENICILINA

Em 1942 chegava-nos a notícia dos "milagres" curativos conseguidos com a penicilina, o antibiótico que FLEMING descobrira no *Penicilium notatum* desde 1927. A exportação do antibiótico era proibida: droga de interesse militar e estratégico, ainda com produção reduzida. HENRIQUE ARAGÃO, na época director do Instituto Oswaldo Cruz, resolveu instalar em Manguinhos uma fábrica-piloto de penicilina, dela ficando encarregados ANTONIO EUGÊNIO DE ARÊA-LEÃO e HUMBERTO CARDOSO. No primeiro semestre de 1943 o antibiótico já estava sendo produzido. Naturalmente, em estado bruto: não concentrado nem liofilizado, contendo cerca de 10 unidades por mililitro. Mesmo assim, foi empregado com êxito em várias infecções bacterianas, tendo sido até enviado para outros países, inclusive a Espanha.

MARQUES DA CUNHA e NERY-GUIMARÃES quiseram experimentá-lo na bouba, contra seu agente produtor, o *Treponema pertenue*. NERY-GUIMARÃES visitou as zonas endêmicas do Estado do Rio de Janeiro, de onde trouxe vários doentes para o

Hospital Evandro Chagas. Os resultados foram excelentes, tendo sido publicados nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, em Março de 1944. Foi a primeira publicação mundial sobre o tratamento da *framboesia tropica* pela penicilina. Além das lesões primo-secundárias, foram tratadas as outras formas clínicas, inclusive as lesões gomatóides ósteo-cutâneas e a gangosa (*Rhinopharyngitis mutilans*). Em 1950, quando do Congresso Internacional de Microbiologia, realizado no Rio de Janeiro, foi mostrada a documentação de um caso grave (fotográfica e radiográfica) assim como o próprio paciente, o que provocou de FLEMING uma exclamação incontrolada: "Extraordinary!"

Para uma experiência-piloto de tratamento no campo foi instalado em 1945 um Posto de Estudos sobre a Bouba, primeiro em Rio Bonito e depois em Araruama (Estado do Rio de Janeiro), sob a chefia de NERY-GUIMARÃES. Nesse Posto, mais de mil boubáticos foram tratados pelo sistema de albergagem dos doentes. Em 1952, esses resultados foram apresentados ao I Simpósio Internacional de Bouba (Bangkok, Tailândia), promovido pela Organização Mundial de Saúde. Com um trabalho de vigilância, que perdurou até 1955, a doença foi inteiramente controlada em uma área, incluindo os municípios de Maricá, Saquarema, Rio Bonito, Araruama, São Pedro d'Aldeia e Silva Jardim. Assim ficou protegida uma população rural de mais de 30 mil habitantes. Sobre os aspectos clínicos, patogênicos, epidemiológicos e terapêuticos da bouba, realizados no campo e no laboratório, foram feitas cerca de 30 publicações no país e no exterior.

Em 1956, com a criação do Departamento Nacional de Endemias Rurais, sob a direcção de MÁRIO PINOTTI, foi iniciada uma Campanha Nacional de Erradicação da Bouba, coordenada por NERY-GUIMARÃES. Durante o primeiro ano, mais de um milhão de casas foram visitadas, mais de 5 milhões de pessoas foram examinadas e mais de um milhão foram tratadas, metade como doentes de bouba e metade como contactos de enfermos infecciosos. Isso foi possível com o advento das penicilinas de acção retardada, aplicadas em dose única, de casa em casa. Estudos recentes (1966-69) mostraram apenas a existência de focos residuais de bouba na região amazônica e em outras áreas remotas do interior do país.

MICOLOGIA

O ESTUDO DAS DOENÇAS DO HOMEM E DE OUTROS ANIMAIS, PRODUZIDAS PELOS COGUMELOS

PRECURSORES DOS ESTUDOS DE MICOLOGIA MÉDICA NO BRASIL

Desde o princípio do século XIX, se fizeram no Brasil estudos sobre cogumelos, bastando lembrar que o autor da clássica *Flora cryptogamica Erlangensis*, um dos marcos miliares da literatura micológica, o mesmo que escreveu as *Decas plantarum mycetoidarum quas in itinere Brasiliensi observavit Dr. Martius* foi, nem mais nem menos que o grande botânico e estudioso do Brasil, que a ele tanto deve, KARL FRIEDRICH PHILLIP VON MARTIUS, o iniciador da monumental *Flora Brasiliensis*.

Excluindo a referência à aspergilose pulmonar observada em um periquito do Brasil, a qual se encontra na memória sobre as doenças dos órgãos da voz, publicada por EMM. ROUSSEAU e SERRURIER, em 1839, parece que tenha sido SILVA ARAUJO (pai) quem, no Brasil, primeiro se ocupou do estudo de micoses do Homem e de outros animais. Em 1889, observou ele a transmissão ao Homem do favo das galinhas, doença de que se pôde fazer o diagnóstico retrospectivo e que é produzida pelo *Trichophyton gallinae*. Também é de SILVA ARAUJO (pai) a primeira observação no Brasil de um caso humano de favo, produzido pelo *Achorion Schoenleinii*.

Em épocas mais recentes, já no começo do século actual, PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES, em 1901, assinala a presença entre nós da piedra tricospórica por ele encontrada em um paciente proveniente de Vassouras, no Estado do Rio de Janeiro. Mais tarde, o mesmo autor estuda um caso de micetoma podal por *Monosporium apiospermum* e se ocupa da micose blastomicóide descoberta por ADOLPHO LUTZ e que é hoje geralmente conhecida pela denominação de doença ou micose de Lutz.

Quanto a esta última entidade mórbida, sua descoberta foi a mais importante contribuição de ADOLPHO LUTZ para a micologia médica, ao estudo que publicou em 1908 sobre a doença e o parasito,

nenhuma correcção importante se tendo a fazer, mas sim, novas aquisições. Foi também LUTZ quem, em São Paulo, demonstrou a ocorrência espontânea de esporotricose em ratos e a possibilidade de sua transmissão ao Homem pela mordedura do roedor.

Na Bahia, em 1907, GONÇALO MONIZ e PRADO VALLADARES estudam a piedra ascospórica.

Todas essas contribuições foram trazidas no Brasil independentemente dos trabalhos realizados em Manguinhos, onde o desenvolvimento das pesquisas micológicas só se iniciou na segunda década do século actual e se pode distinguir em dois períodos sucessivos, antes e depois de se terem elas organizado em um serviço especializado.

INÍCIOS EM MANGUINHOS

Os primeiros estudos de micologia médica em Manguinhos se devem a HENRIQUE FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS, que se formara como eximio bacteriologista no próprio Instituto e no Instituto Pasteur de Paris, assistindo sem dúvida às aulas neste último professadas por PINOY e por SABOURAUD. As principais contribuições de VASCONCELLOS à micologia consistiram na descoberta de uma nova espécie de *Trichophyton* do grupo *gypseum* (= *T. mentagrophytes, sensu lato*), o *Trichophyton griseum*, e da verificação da ocorrência de infecções espontâneas do cobaio por um dermatófito desse mesmo grupo. Esta última verificação era até há pouco a única no gênero.

PAULO PARREIRAS HORTA, em 1911, trouxe um progresso importante ao estudo da piedra negra, em cujos nódulos peripilares encontrou as formações que chamou "quistos", as quais nós com ARÊA-LEÃO, em 1928, reconhecemos e identificamos como verdadeiros ascos, que encontramos também nas culturas velhas do cogumelo. Nessas verificações, baseamos a criação do gênero *Piedraia*, logo unanimemente admitido.

Também se encarregou PARREIRAS HORTA do estudo do cogumelo que OSWALDO CRUZ isolara na Amazônia, de um caso de micetoma podal, cogumelo que só anos mais tarde, em 1919, veio a descrever, como uma nova espécie, sob o nome de *Madurella Oswaldoi*. O mesmo autor publicou sobre *tinha negra palmar* um trabalho baseado num caso estudado no Policlínica Geral do Rio de Janeiro por JOÃO RAMOS E SILVA que dele isolara um cogumelo denominado por PARREIRAS HORTA *Cladosporium Werneckii*, em homenagem ao ilustre dermatologista brasileiro WERNECK MACHADO. Estes dois últimos trabalhos, PARREIRAS HORTA só os publicou quando já não mais fazia parte dos quadros técnicos de Manguinhos. E' também de PARREIRAS HORTA (1911) a descrição, como nova espécie, do *Microsporon flavescens*.

Uma descoberta que a princípio deu origem a dúvidas, foi a que CARLOS CHAGAS (pai) fez de um microrganismo encontrado no pulmão de indivíduos que tinham sucumbido à tripanossomose americana e de cobaios experimentalmente inoculados com o *Schizotrypanum Cruzi*. Procurava CHAGAS as formas de reprodução deste último parasito no vertebrado, o qual, ao contrário do que acontece com os tripanossomas, não se divide no sangue circulante. Dele não sendo na época ainda conhecidas as formas leishmanióides dos tecidos que só em 1912 GASPAR VIANNA descreveu, interpretou então CHAGAS os parasitos que encontrava no pulmão dos enfermos e dos cobaios, como correspondendo às formas de reprodução no vertebrado, do agente etiológico da doença que descobrira. ANTONIO CARINI em São Paulo e HENRIQUE ARAGÃO no Rio de Janeiro vieram a achar o mesmo parasito no pulmão de animais "normais", isto é, não inoculados com esquizotrípano, ficando assim demonstrado que não fazia ele parte do ciclo evolutivo deste último. Era, portanto, mesmo um novo parasito ao qual o casal DELANOË, no Instituto Pasteur de Paris, deu o nome de *Pneumocystis Carinii*. Passou-se então a pôr em dúvida a ocorrência dessa espécie no Homem, atribuindo-se a uma acidental troca de preparados microscópicos a referência feita por CHAGAS a seu parasitismo na espécie humana. Continuava-se também a considerá-la um protozoário. Nos últimos decênios, porém, foi observado este parasito na Europa Central em casos graves de uma pneumopatia infantil às vezes conduzindo à morte. Em 1952, no Instituto Tropical de Hamburgo, tivemos ocasião de examinar preparados de um desses casos mortais de infecção humana por *Pneumocystis Carinii*, parasito que CHAGAS fora o primeiro a encontrar, embora não lhe reconhecendo a verdadeira natureza. Pelo estudo desses casos europeus, alguns autores foram conduzidos a admitir que se tratasse, não de um protozoário, mas, sim, de um cogumelo. Embora até hoje não se tenham obtido culturas de *Pneumocystis* em meio artificial, somos da opinião de que se trata realmente de um cogumelo e, a nosso ver, diante das formas bem

descritas e figuradas por CHAGAS, de um cogumelo ascomiceto de grupo ainda a determinar. HENRIQUE ARAGÃO e JESUINO MACIEL publicaram um interessante trabalho (*Pediatria Clínica*, 1955, 26 (1): 11-20; e *Revista de Medicina e Cirurgia de São Paulo*, 1956, 16 (1): 33-40), sobre "O *Pneumocystis Carinii* como causa de pneumonia intersticial plasmocitária em crianças".

A MICOLOGIA MÉDICA NO INSTITUTO EZEQUIEL DIAS, EM BELO-HORIZONTE

Independentemente da organização em Manguinhos dum laboratório especializado em micologia, na filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte, filial que mais tarde passou a constituir o Instituto Ezequiel Dias, desenvolveu-se um centro de estudos micológicos. Lá, em 1914, OCTAVIO COELHO DE MAGALHÃES primeiro descreveu a micose pulmonar por *Trichosporon pulmoneum* (= *Oidium brasiliense*), doença não muito rara, que clinicamente se pode apresentar com um quadro semelhante ao da tuberculose pulmonar, mas que dela na época se distinguia logo pelo prognóstico favorável (o prognóstico da tuberculose era então sempre desfavorável), quando a tempo tratada pelos iodetos. Lá também OCTAVIO DE MAGALHÃES e seu discípulo e colaborador AROEIRA NEVES realizaram muitos outros trabalhos, principalmente sobre dermatófitos. São dessa época os *Ensaios de micologia* de MAGALHÃES, a descrição do *Trichophyton multicolor* e a verificação da presença no Brasil do *Trichophyton ferrugineum*, este talvez importado durante o tráfico de escravos africanos.

A ADENOMICOSE ENDÊMICA OU DOENÇA DE LUTZ

De 1914 a 1917, no Instituto que dirigia, realizou EZEQUIEL CAETANO DIAS uma série de trabalhos sobre o que denominou "adenomicose endêmica". Os casos observados em Belo Horizonte, dessa supostamente nova entidade mórbida do Homem, vinham sendo diagnosticados como de doença de Hodgkin, adenoma, linfossarcoma. Uma vez que os exames indicados eram negativos, neles estava excluída a intervenção da tuberculose e da sífilis, como também, pelo hemograma, que então ainda assim não se chamava, a possibilidade de se tratar de leucemia. Os gânglios cervicais, submaxilares e supraclaviculares se mostravam ingurgitados e, às vezes, o estavam enormemente. Nesses gânglios EZEQUIEL DIAS encontrou um cogumelo que denominou *Adenomyces Cruzi*, o qual ele descreveu como se caracterizando por um grande polimorfismo. Entretanto, na opinião de vários especialistas, que na época acompanharam esses estudos e que examinaram as preparações, pelo menos vários dos casos observados eram da chamada blastomicose brasileira, hoje conhecida como doença de Lutz. Em trabalhos sucessivos, EZEQUIEL DIAS forneceu dos caracteres culturais do parasito descrições contraditórias. Em um desses trabalhos, diz que esse cogumelo formava colônias amareladas; salientes, a princípio lisas e glabras, depois secas, encarquilhadas (isto é, rugosas), cobertas de circunvoluções. Esse aspecto, descrito por EZEQUIEL DIAS, concorda com o que apresentam as colônias do parasito da doença de Lutz. Daí por diante, entretanto, como o próprio EZEQUIEL DIAS veio a reconhecer mais tarde, o que esse autor observou foi um contaminante que surgia com frequência em suas culturas e que ele tomou a princípio como sendo a forma de frutificação do parasito. Este contaminante se apresentava com longos filamentos brancos alvíssimos, que se elevavam do meio de cultura e chegavam a tocar as paredes opostas do tubo. Eram eles constituídos por feixes de hifas aéreas esporíferas que DIAS correctamente qualificou de corêmios. Tivemos oportunidade de pessoalmente examinar as culturas originais de EZEQUIEL DIAS, nessa fase de desenvolvimento, i.e., de contaminação, e pudemos convencer-nos de que o cogumelo que nelas se desenvolvia então era um representante do gênero *Isaria*, que inclui Deuteromicetos da ordem *Moniliales* (*non Candida*), que se isolam frequentemente de insectos e que correspondem com toda a probabilidade a formas imperfeitas, i.e., assexuadas, de Ascomicetos.

Em outra publicação, assinala DIAS aspecto diverso, do crescimento sob a forma de um revestimento semi-gelatinoso que deslisava sobre a superfície do meio sólido de cultura e tinha tendência a se acumular no fundo do tubo: contaminação bacteriana, evidentemente.

Tais falhas, acrescidas da convicção que ele adquirira de ser a doença de Hodgkin a mesma entidade mórbida que a adenomicose, lançaram uma sombra de descrédito sobre as observações de EZEQUIEL DIAS. E' preciso, entretanto, não esquecer que na mesma época se descrevia como agente etiológico da doença de Hodgkin um *Corynebacterium*.

A situação ainda mais se agravou quando aquele autor passou a se ocupar do estudo das leucemias e chegou à conclusão de que também essas doenças fossem causadas por um cogumelo muito semelhante ao que encontrara na adenomicose. E é natural que isso acontecesse, pois se tratava sem dúvida do mesmo tipo de *Isaria* que contaminava suas culturas da doença de Lutz. A esse cogumelo, deu EZEQUIEL DIAS o nome de *Adenomyces leucemiae*, denominação que é um nome nu, *nomen nudum*, i.e., não acompanhado de descrição nem depois revalidado.

De tudo o que acima dissemos, a respeito da adenomicose endêmica, se conclui que aquele autor, antes de qualquer outro, observou em Belo Horizonte, como em São Paulo o fez depois HABERFELD e o fizeram outros autores, casos da forma linfático-visceral da doença de Lutz, sem manifestações tegumentares, para ela propondo um nome muito bem escolhido e adequado, "adenomicose". É possível que sob essa denominação tenha DIAS englobado outras entidades mórbidas que na época mal estavam os clínicos preparados para distinguir. Chega-se também à conclusão de que DIAS isolou o parasito da doença de Lutz, embora a princípio tenha incluído na descrição das colônias por ele formadas a dos contaminantes do gênero *Isaria*, erro que mais tarde corrigiu, mas no qual depois reincidiu, ao descrever formas bacterianas como fazendo parte do ciclo do verdadeiro agente etiológico da doença.

Diante disso, de acordo com as Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica, não parece seja lícito revalidar o gênero *Adenomyces* e a respectiva espécie-tipo, *Adenomyces Cruzi* EZ. DIAS, 1914, para o agente produtor da doença de Lutz.

Se tal ponto de vista fosse adoptado, o gênero *Adenomyces* EZ. DIAS, 1914, teria prioridade em relação aos gêneros *Paracoccidioides* ALMEIDA, 1930 e *Lutziomyces* O. DA FONSECA, 1939, uma vez que o binômio *Zymonema brasiliense* SPLENDORE, 1913, conforme em outros trabalhos demonstramos, é apenas um *nomen nullum et confusum*, e que a espécie *Zymonema histosporocellularis* HABERFELD, 1919, é de data posterior. Mas, para seguir essa orientação, seria necessário passar por cima das regras de nomenclatura botânica.

O LABORATÓRIO DE MICOLOGIA, DEPOIS SECÇÃO DE MICOLOGIA DE MANGUINHOS

Parte dessas descobertas já se achava no activo de novas aquisições científicas, quando se tornou patente o interesse que haveria em sistematizar os trabalhos de micologia do Instituto, organizando uma unidade de trabalho especialmente a eles destinada. Foi essa a origem da Secção de Micologia. Estava bem evidente que uma tal organização não deveria ser improvisada, mas, sim, metodicamente preparada, de modo a dar aos trabalhos nela realizados uma base mais firme do que até então possuíamos, mormente no que se referia aos aspectos botânicos do problema, até então quase de todo descurados. Para isso, a primeira providência necessária era o preparo de pessoal especializado.

Bem compreendendo essa necessidade, o então director do Instituto Oswaldo Cruz, CARLOS CHAGAS (pai), desde 1919, designou para essa tarefa de especialização em micologia o autor destas linhas, que, durante seis anos, na qualidade de conservador do herbário respectivo, se ocupara de assuntos de botânica na então cadeira de História Natural Médica da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro e que, em 1916, seguira o curso de micologia geral professado no Jardim Botânico dessa cidade pelo engenheiro agrônomo EUGÊNIO RANGEL, discípulo de ANDRÉ MAUBLANC, um dos mais competentes micólogos franceses.

Essa designação de CHAGAS e os factos que dela resultaram são a razão pela qual o presente capítulo de "A Escola de Manguinhos" reveste, até certo ponto, um aspecto *quase*-autobiográfico, tão estreitas foram as relações nossas com as actividades do Laboratório depois transformado em Secção de Micologia. Tais circunstâncias devem fazer com que se nos releve, sermos aqui obrigado a relatar nossa frequente e acentuada participação nas pesquisas lá realizadas.

Ficou assentado com o Dr. LEWIS WENDELL HACKETT, então representante no Brasil da Fundação Rockefeller e que mais tarde se haveria de notabilizar pelas pesquisas sobre malária, escrevendo o livro clássico *Malaria in Europe*, que nos seria concedida por aquela Fundação uma bolsa de estudos para realizarmos nos Estados Unidos nossa especialização em micologia. Sabendo, através de HACKETT, da nossa projectada viagem, o ilustre protozoologista Prof. CHARLES ATWOOD KOFOID, que conhecia os nossos trabalhos sobre flagelados parasitos, nos convidou para prosseguirmos nesses estudos em sua cátedra na Universidade de Califórnia, em São Francisco. Tendo, porém, assumido o compromisso de organizarmos em Manguinhos o futuro serviço de micologia, não nos foi possível aceitar o honroso convite.

Assim, em Setembro de 1920, seguimos para os Estados Unidos da América, encaminhado em Nova York ao Dr. VICTOR G. HEISER, um dos directores da Fundação Rockefeller, ilustre higienista, veterano de campanhas sanitárias em várias partes do mundo e que mais tarde seria mundialmente famoso pelo livro de memórias que publicou. Em Baltimore nos íamos apresentar ao eminente patologista Prof. WILLIAM HENRY WELCH, o grande renovador do ensino médico americano, que então dirigia a Escola de Saúde Pública por ele organizada na Universidade de Johns Hopkins. Nessa Escola nos matriculamos como *special student*, para especialização em assuntos de micologia médica.

Cerca de trinta anos antes, fora WELCH um dos "quatro grandes" organizadores do ensino médico daquela universidade, os outros sendo WILLIAM OSLER, para a clínica médica, HOWARD KELLY, para a ginecologia e WILLIAM STEWART HALSTED para a cirurgia. Todos eram então jovens, o mais velho, com quarenta anos de idade, sendo OSLER, que, canadense de nascimento, se transferiu depois para a Inglaterra, tornando-se uma celebridade mundial, e recebendo um título nobiliárquico a que correspondia o tratamento de "Sir".

Fomos a princípio trabalhar no Departamento de Bacteriologia, cujo chefe era o professor associado WILLIAM WEBBER FORD, autor de um conhecido compêndio de microbiologia e que em tempo se dedicara a estudos sobre cogumelos venenosos, tendo realizado trabalhos sobre hemolisinas e toxinas de *Amanita muscaria* e *A. phalloides*. Esse estágio, porém, durou apenas alguns dias, passados os quais WILLIAM WELCH apareceu no laboratório em que trabalhávamos, convidando-nos a jantar naquela noite no Maryland Club. Ao lá chegarmos, estavam já com WILLIAM WELCH o famoso patologista WILLIAM MAC CALLUM, o homem que descobrira a sexualidade do *Haemoproteus columbae* e do *Plasmodium falciparum*, e era então o chefe do Departamento de Patologia da Universidade de Johns Hopkins, e STANHOPE BAYNE-JONES, jovem professor associado do mesmo departamento e que mais tarde viria a ser director de pesquisas médicas na Universidade de Cornell. A ambos fomos apresentado por WELCH que então nos declarou que achava preferível passássemos a trabalhar no departamento de MACCALLUM, ao lado de BAYNE-JONES.

Ao professor FORD, entretanto, ficamos a dever o nos ter encaminhado, de um lado na própria Universidade de Johns Hopkins ao Prof. DUNCAN S. JOHNSON, para os estudos básicos que se nos afiguravam indispensáveis de botânica criptogâmica, e de outro lado em Washington, D. C., respectivamente, no *Bureau of Chemistry* e no *Bureau of Plant Industry*, ao Dr. CHARLES THOM, então uma das três ou quatro autoridades mundiais no estudo dos penicílios e aspergilos, e ao Dr. ERWIN F. SMITH, notável figura de humanista e de poeta, ao mesmo tempo que um dos fundadores da bacteriologia das doenças das plantas. Através deste último viemos a ter a oportunidade de receber múltiplos e úteis ensinamentos de CORNELIUS SHEAR, micólogo de reputação internacional.

Ainda em Baltimore fomos trabalhar com T. C. GILCHRIST, chefe do Departamento de Dermatologia tanto na Universidade de Johns Hopkins como na Estadual de Maryland.

Mas, além desses mestres, a nossa estada em Baltimore nos proporcionou ter contactos com muitos homens eminentes e deles receber ensinamentos.

Na Escola de Saúde Pública da Universidade de Johns Hopkins, ensinavam entre outros WERNER MACCOLLUM, vanguardeiro no estudo das vitaminas; WILLIAM HENRY HOWELL, um dos mestres da fisiologia de sua época; RAYMOND PEARL, autoridade em biométrica e bioestatística. No "campus" de Homewood, ao lado do gabinete de botânica em que trabalhávamos com JOHNSON, na ocasião, o célebre geneticista T. H. MORGAN e seus colaboradores realizavam fundamentais pesquisas sobre as drosófilas, e outros construiam os primeiros micromanipuladores que se fabricaram, cujo custo não ia além de cinquenta dólares e que WILLIAM H. TALIAFERRO utilizava para obter exemplares isolados dos tripanossomas com que trabalhava. No Hospital da Universidade, na velha Broadway de Baltimore, THAYER professava a clínica medica, depois de se ter ilustrado pelos estudos sobre malária, continuando a tradição que deixara nos Estados Unidos o grande WILLIAM OSLER.

Consideramos um verdadeiro privilégio o ter podido receber orientação, conselhos e ensinamentos de tão eminentes homens de ciência americanos e não nos esquecemos de que o devemos em grande parte à benemérita Fundação Rockefeller.

Assim, em Baltimore, dividindo o tempo entre as clínicas de GILCHRIST nos dois hospitais universitários, o laboratório de botânica de JOHNSON no "campus" de Homewood e o serviço de patologia de MACCALLUM, passamos oito meses, antes de seguirmos para Washington, D.C. Na capital americana fizemos um estágio de três meses no serviço de fitopatologia de ERWIN SMITH e de SHEAR, no *Bureau of Plant Industry*, e outro de igual período no laboratório de microbiologia do *Bureau of Chemistry*, a cargo de THOM e de Miss MARGARET B. CHURCH.

Nos Estados Unidos se tinham feito algumas das mais importantes descobertas no domínio da micologia médica. O primeiro caso humano de esporotricose lá fora descrito em 1898 por SCHENCK, e os que se lhe seguiram, dois anos depois, levaram L. HETKOEN e C. F. PERKINS a estabelecer a espécie que é hoje conhecida sob o nome de *Sporotrichum Schenckii*. Depois do caso estudado na República Argentina por POSADAS e WERNICKE, nos Estados Unidos se tinha descrito a granulomatose coccidioídica, endêmica em certas regiões daquele país e cujo parasito, por sugestão de STILES, recebeu de E. RIXFORD e de GILCHRIST o nome de *Coccidioides immitis*, na suposição de que se tratasse de um protozoário. Nos Estados Unidos se descreveu também a chamada blastomicose americana, a qual tem o nome hoje muito geralmente adoptado de doença de Gilchrist, para cujo parasito, o *Blastomyces dermatitidis* de GILCHRIST e W. B. STOKES, os micólogos italianos REDAELLI e CIFERRI criaram o gênero *Gilchristia* e para cuja forma perfeita, MCDONOUGH e LEWIS estabeleceram o gênero *Ajellomyces*. Também MACCALLUM, em 1895, publicara um dos mais completos estudos até hoje feitos sobre um caso de actinomicose generalizada e sobre o agente etiológico em causa que era a *Nocardia asteroides*.

Mas, todos esses estudos datavam de fins do século passado e nos dois decênios decorridos a literatura americana sobre micoses do Homem, além do registo de uma casuística aumentada, quase só versava os aspectos clínicos e anátomo-patológicos daquelas mesmas entidades mórbidas. Nesse período de vinte anos, parece ter havido pouco interesse da parte dos pesquisadores americanos pela investigação dos agentes etiológicos das micoses do Homem. Quando lá estávamos estudando, citava-se apenas o nome do Major Dr. F. SCHMITTER, dos serviços de saúde do Exército Americano, como se ocupando do assunto. BAYNE-JONES estava no momento com dois casos de actinomicose que começava a estudar. Ainda não tinha surgido o centro de estudos micológicos constituído pelo laboratório de FRED D. WEIDMAN na Universidade de Pennsylvania, em Filadélfia, nem tampouco o que, em *Columbia University* se formou em torno de RHODA W. BENDHAM, e nem se falava em Atlanta, em *Duke University* e nos laboratórios de Bethesda como sedes das importantes escolas de micologia médica hoje lá existentes.

Em contraposição, era muito grande a actividade no campo das pesquisas sobre micologia geral e fitopatologia, contando-se por centenas as pessoas que, nas cátedras de botânica das universidades e nos serviços de fitopatologia do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e dos departamentos análogos de vários Estados da União, se ocupavam com o estudo da biologia dos cogumelos e com as doenças de plantas por eles produzidas. Isso nos ofereceu oportunidade de estudar com ERWIN SMITH e suas assistentes (no laboratório do mestre não havia outros homens) várias doenças de vegetais, entre as quais o *crown-gall*, produzido pelo *Agrobacterium tumefaciens*, assim chamado pela propriedade que tem de produzir, nas plantas atacadas, tumores nos quais se procurou encontrar analogias com os neoplasmas do Homem e de outros animais. Também com ERWIN SMITH aprendemos que, como um ramo que é da biologia, a patologia é uma só, nas plantas e nos animais, inclusive no Homem, em todos os seres vivos se regendo pelas mesmas leis gerais. Já então, lá nos foi chamada a atenção para a possível invasão dos cafezais do Brasil pela *Hemileia vastatrix*, que, como o nome indica, produzia grandes devastações nas plantações da África, e que acabou mesmo por chegar ao Brasil.

Com as amostras de dermatófitos por nós isoladas nas clínicas de GILCHRIST e em outros serviços do Hospital da Universidade de Johns Hopkins, iniciamos uma colecção de culturas que grandemente ampliamos no laboratório de THOM e de Miss CHURCH, de modo que, ao terminarmos nosso estágio nos Estados Unidos, já dispúnhamos de uma micoteca de várias centenas de amostras, a qual na Europa nos veio a servir de "cartão de visita", abrindo-nos as portas de todos os centros de estudos micológicos, onde sempre há quem esteja interessado em obter novas amostras de cogumelos. A nossa colecção incluia espécies produtoras de micoses do Homem e de vários animais domésticos, parasitos de plantas, amostras isoladas do solo, agentes de fermentações e de outras transformações químicas de interesse industrial, muitas das quais vindas do Extremo-Oriente.

Terminados os estudos nos Estados Unidos, a Fundação Rockefeller resolveu conceder-nos uma nova bolsa para prosseguirmos nosso trabalho na Europa, nos centros em que a micologia médica mais se tinha desenvolvido, em particular na França. Fomos então trabalhar, no Hospital São Luís, onde funcionavam a Escola Lailler para crianças afectadas de tinhas do couro cabeludo e o Laboratório Municipal da Cidade de Paris, que então estava sob a direcção de RAYMOND SABOURAUD, o fundador, se pode dizer, da moderna micologia médica. As tardes passávamos no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina, onde professava EMILE BRUMPT tendo como Chefe de Laboratório MAURICE LANGERON que, além de um grande técnico, era também micologista con-

sumado. Lá, com NEVEU-LEMAIRE, DOLLFUS, LAVIER, LARROUSSE, passamos dez meses, estudando a parte da micologia aplicada à medicina humana e também à veterinária. De facto, por essa época realizava BRUMPT seus estudos sobre a tristeza ou piroplasmose bovina e, no último pavimento da Faculdade de Medicina de Paris, mantinha ele um curral com os animais que lhe serviam para as experiências e dos quais eventualmente nos viemos a utilizar.

Nos laboratórios de SABOURAUD e de BRUMPT, era nosso companheiro de trabalho MASAO OTA, então professor em Sendai, no norte do Japão.

De Paris, dirigimo-nos a Lyon, para na Faculdade de Ciências trabalhar com ALEXANDRE GUILLIERMOND cujos estudos de citologia vegetal e sobre a sexualidade e sistemática das leveduras faziam então o maior sucesso, tendo logo depois conduzido seu autor à cátedra de botânica da Sorbonne e ao Instituto de França. Com GUILLIERMOND e em companhia de seu então jovem assistente G. MANGENOT e de GRIGORAKI, que também lá fazia estágio, passamos três utilíssimos meses, durante os quais travamos excelentes relações com o meio médico e científico de Lyon e, particularmente, com o grande mestre da histologia que foi POLICARD.

Antes de voltarmos ao Brasil, durante o segundo semestre de 1922, fomos visitar os principais centros de estudos micológicos europeus, situados fora da França. Conosco levávamos em duas pesadas maletas que nós mesmo pessoalmente carregávamos, as já então mais de oitocentas culturas de cogumelos que constituiam na época uma das maiores micotecas ou colecções de culturas vivas desses vegetais inferiores. Com ela nos apresentávamos aos micólogos interessados em conosco manter correspondência e permuta de amostras.

Em primeiro lugar nos dirigimos a Londres, onde no *Lister Institute* existia uma colecção análoga, talvez a segunda do mundo. Lá estabelecemos contacto com ST.-JOHN BROOKS, já então personalidade de destaque e que mais tarde se tornou familiar a todos os microbiologistas por ser um dos principais organizadores dos Congressos Internacionais de Microbiologia. De lá fomos à Bélgica, onde entramos em contacto com o professor PH. BIOURGE, da Universidade de Lovânia, outra autoridade mundial em aspergilos e penicílios. Em seguida, na Holanda, dirigimo-nos a Baarn, pequena cidade próxima de Amsterdam, onde a Dra. JOHANNA WESTERDIJK e suas colaboradoras eram responsáveis pela manutenção da maior micoteca então existente, no *Internationale Bureau voor Schimmelcultures*, organizado sob os auspícios da Sociedade Internacional de Botânica. Lá tomamos contacto com os trabalhos em andamento e, particularmente, com a tese de doutoramento em ciências naturais da Universidade de Utrecht, então em preparação e para a qual contribuimos com culturas, da Dra. CHRISTINE MARIE BERKHOUT (*De schimmelgelachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula*), trabalho que ficou clássico porque nele a autora propôs a criação do gênero *Candida*, hoje por todos os autores admitido e que tem como tipo o antigo *Oidium* ou *Monilia albicans* de CHARLES ROBIN.

Da Holanda, passamos à Alemanha, visitando em Hannover o Prof. KARL WEHMER, da *Teknologische Hochschule*, outro notável especialista dos aspergilos. Em Hamburgo, como não poderia deixar de ser, fomos visitar o *Institut für Schiffs-und Tropenhygiene*, o actual *Instituto Tropical*, onde HENRIQUE DA ROCHA-LIMA chefiava o Departamento de Patologia. Este encaminhou-nos ao Hospital de Eppendorf onde PLAUT se ocupava então do estudo das micoses e dos cogumelos patogênicos para o Homem. Muitos anos mais tarde tivemos oportunidade de rever esses locais, tanto Hannover quanto Hamburgo e outras cidades alemães, como Berlim e Frankfürt, devastadas, algumas delas mesmo arrasadas, pelos bombardeios aéreos na segunda guerra mundial. Fomos em seguida à Itália, mas ao lá chegarmos, irrompeu a greve geral que, em meados de 1922, precedeu o levante fascista chefiado por MUSSOLINI e a marcha sobre Roma. Essa circunstância impediu que tomássemos contacto com os meios italianos da especialidade, o que só anos depois, em 1938, por ocasião da "Anschluss", que determinou nova crise política na Itália, pudemos fazer, visitando em particular Pavia, de onde irradiara o trabalho de SACCARDO, o iniciador do monumental *Sylloge Fungorum* e onde REDAELLI e CIFFERI se dedicavam ao estudo das aplicações médicas da micologia, e Roma, onde PUNTONI professava.

Em fins de 1922, ao chegarmos ao Rio de Janeiro com a valiosa colecção de cogumelos que reuniramos, o Prof. CARLOS CHAGAS, director do Instituto Oswaldo Cruz, conforme tinha sido previsto, entregou-nos o encargo de organizar e chefiar a nova unidade de trabalho que recebeu a designação não oficial de Laboratório de Micologia. Determinou também CHAGAS a aquisição, como lhe havíamos solicitado, das obras clássicas de micologia e entre elas as de ELIAS FRIES, de NEES VON ESENBECK, de PERSOON, de CORDA e de MARTIUS, que hoje em Manguinhos constituem uma óptima biblioteca especializada.

Para conosco trabalhar, CHAGAS designou o Dr. ANTONIO EUGÊNIO DE ARÊA-LEÃO, que em Manguinhos era então o encarregado da execução das

dezenas de reacções de Wassermann semanalmente realizadas para os pacientes do Hospital Geral da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro. Ainda em 1922, publicava ARÊA-LEÃO um trabalho sobre os resultados comparativos das reacções de Wassermann e de Sachs-Giorgi em 2 mil pacientes. Estava o Dr. ARÊA-LEÃO naturalmente indicado para conosco se iniciar no estudo da micologia médica, pela circunstância de ter sido interno e de continuar como assistente voluntário da Clínica Dermatológica da Faculdade de Medicina da Universidade do Rio de Janeiro, de que, na qualidade de catedrático da especialidade, era chefe o Prof. FERNANDO TERRA. Este ilustre dermatologista, que também fora nosso mestre no curso de formação daquela escola médica, com grande gentileza e larga visão, pôs à nossa disposição o seu serviço clínico, assim permitindo que aproveitássemos o rico manancial de doentes lá internados e que passamos a estudar com ampla liberdade.

Estava desse modo organizado o "Laboratório de Micologia" do Instituto Oswaldo Cruz, trabalhando em íntima colaboração com um grande serviço hospitalar de dermatologia. Essa cooperação continuou, ao deixar a cátedra o Prof. FERNANDO TERRA e ao assumi-la o Prof. EDUARDO RABELLO, quando oficialmente passamos a nela exercer o cargo de chefe de laboratório.

O modo pelo qual funcionava esse conjunto permitiu que, em 1929, quando o Prof. W. ENGELHARDT, da Clínica Dermatológica da Universidade de Giessen, fez uma consulta internacional sobre a organização de centros de pesquisa de micologia médica no mundo inteiro, dentre as respostas que recebeu, tivesse a de uma grande autoridade no assunto, RAYMOND SABOURAUD, que declarou: "L'Institut Oswaldo Cruz, à Rio de Janeiro, réalise déjà en grande partie ce qu'on pourrait souhaiter d'analogue en chaque pays". Era, pois, na matéria, a nossa organização apontada como podendo servir de modelo para os outros países e apontada por quem tinha de sobra competência para fazê-lo.

Durante quinze anos, de 1922 a 1937, chefiamos o Laboratório de Micologia, do qual fomos forçado a nos afastar pela ditadura de VARGAS, durante o regime discricionário do chamado "Estado Novo". Para atender ao princípio de uniformização e padronização administrativas, então adoptado, o Laboratório de Micologia mudou de nome, passando até época recente, a constituir a "Secção de Micologia" do Instituto Oswaldo Cruz, já então sob a chefia do nosso antigo colaborador Dr. ARÊA-LEÃO.

ACTIVIDADES DO LABORATÓRIO DE MICOLOGIA DE MANGUINHOS

Uma das principais actividades do Laboratório de Micologia consistia e ainda consiste na manutenção das culturas vivas de cogumelos, cujo número, quando deixamos a respectiva direcção, já atingia a mais de 2.600 amostras classificadas e todas de diferentes procedências. Essas culturas eram mantidas vivas pela replantação constante (hoje são conservadas por liofilização, o que tem vantagens e inconvenientes). Os transplantes dessas culturas eram fornecidos, sem qualquer ônus, a todos os laboratórios e especialistas que os solicitassem. Na verdade, esse serviço começou a ser prestado antes mesmo de chegarmos de volta ao Brasil, pois a nossa colecção serviu de base para a reconstituição, por MAGROU e seus colaboradores, da micoteca do Instituto Pasteur de Paris, que, durante a primeira guerra mundial tinha desaparecido, por falta de quem transplantasse as amostras lá conservadas, uma vez que todo o pessoal havia então sido mobilizado. Também a nossa colecção contribuiu em larga escala para a que o Prof. MASAO OTA reuniu na Universidade Imperial de Sendai, no Japão. Mais tarde veio ela a servir de ponto de partida para as colecções que foram organizadas pelo Prof. PABLO NEGRONI no Instituto Bacteriológico do Departamento de Higiene de Buenos Aires, pelo Prof. FLORIANO P. DE ALMEIDA, na Faculdade de Medicina de São Paulo, e pelo Prof. MANOEL PEREIRA FILHO, na Faculdade de Medicina da Universidade do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre. Para a colecção do *Bureau of Chemistry*, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, onde tínhamos estudado, contribuiu o nosso laboratório com uma série de mais de cem culturas de penicílios e com muitas outras de aspergilos, as quais constituiram parte do material em que se veio a basear o nosso mestre CHARLES THOM em seus estudos sobre os cogumelos daqueles grupos. Em seu clássico livro *The Penicilli* THOM por várias vezes se refere a esse facto, escrevendo que a nossa contribuição lhe fora "exceedingly valuable" e que estávamos entre aqueles que tinham "contributed largely to our collection and our information".

Entre as amostras que enviamos a THOM, encontrou ele duas espécies novas. Uma foi o *Penicillium Braziliense*. A outra, um aspergilo do grupo *niger*, recebeu de THOM e RAPER o nome de *Asper-*

gillus Fonsecaeus. Esta última revelou-se importante pelas aplicações industriais a que se prestou, sendo por isso objecto de muitos estudos relativos a seu metabolismo. Do *Aspergillus Fonsecaeus*, KENNETH B. RAPER e DOROTHY I. FENNELL, pela acção dos raios ultra-violete obtiveram um mutante do qual O. L. GALMARINI, F. H. STODOLA, K. B. RAPER e D. I. FENNELL, em 1962, isolaram uma nova substância química, a que deram o nome de *fonsecina*. Essa substância é uma naftopirona, isômero da rubrofusarina que se isola dos micetos do gênero *Fusarium*.

Sobre as actividades do Laboratório, depois transformado em Secção de Micologia, num artigo publicado em 1953, sob o título de "Carlos Chagas, Diretor de Manguinhos", HENRIQUE ARAGÃO escreveu: "Outra secção que muito se ampliou foi a de Micologia, tendo sido enviado à Europa e aos Estados Unidos o Dr. OLYMPIO DA FONSECA, que à sua volta organizou e chefiou durante largo espaço de tempo a secção, dotando-a de uma das mais ricas colecções de cogumelos, não só em espécies estrangeiras como de espécies isoladas e estudadas em Manguinhos".

A CROMOBLASTOMICOSE

Num trabalho publicado em 1922, em colaboração com FERNANDO TERRA, MAGARINOS TORRES e ARÊA-LEÃO, criamos o termo — cromoblastomicose — para designar uma entidade mórbida, até então não reconhecida como tal e englobada com manifestações cutâneas de outras doenças sob a designação de "dermatite verrucosa", expressão que, além do mais, não abrangia todo o conjunto de suas manifestações. Ao mesmo tempo, pela primeira vez demonstramos poder essa doença ser produzida por mais de uma espécie de cogumelos.

Tanto a posição sistemática dos agentes etiológicos da cromoblastomicose, como o próprio nome que introduzimos para essa entidade mórbida, foram objecto de muita discussão e de críticas que, a princípio, não raro eram a nós pessoalmente dirigidas. Por essa razão, seremos levado a fazer aqui o histórico de toda a questão, recapitulando factos já bem conhecidos, mas também registando pormenores até agora não publicados.

ARTURO L. CARRIÓN e MARGARITA SILVA, na excelente memória intitulada *Chromoblastomycosis and its etiologic Fungi*, publicada no vol. 6 (1947) dos *Annales Cryptogamici et Phytopathologici*, como parte da *Biology of pathogenic Fungi*, editada por W. J. NICKERSON, começam o histórico dos estudos sobre a doença em questão, escrevendo: "It is generally accepted that chromoblastomycosis was discovered in Brazil".

Antes de se iniciarem em Manguinhos estudos sobre cromoblastomicose, já se vinham realizando trabalhos sobre o assunto, tanto no Brasil como nos Estados Unidos. Assim, em 1915, em uma curta nota publicada na Alemanha, MAX RUDOLPH referiu a existência no Brasil Central (Goiás e Minas Gerais) de uma dermatose verrucosa e papilomatosa, lá conhecida pelo nome vulgar de "figueira", de alguns casos da qual isolara um cogumelo que, nos meios usuais de cultura, formava colônias castanho-escuras ou negras. Nada tendo o autor publicado sobre a histo-patologia das lesões observadas e sendo muito sumária a descrição clínica e parasitológica apresentada, não se pode afirmar com segurança a natureza da doença observada por MAX RUDOLPH e que ele suspeitava ser a mesma encontrada em bovinos da região e lá conhecida pela mesma denominação vulgar. Mas, a probabilidade é de que se tratasse realmente de cromoblastomicose.

No mesmo ano de 1915, nos Estados Unidos, LANE e MEDLAR relataram um caso, diagnosticado como de "dermatite verrucosa", do qual fizeram cuidadoso estudo clínico, histo-patológico e parasitológico, dele isolando um fungo que, após consulta ao ilustre micólogo de Harvard, Prof. ROLAND THAXTER, foi descrito como pertencendo a um novo gênero e a uma nova espécie sob o nome de *Phialophora verrucosa*.

Após uma curta nota sobre o assunto, dois pesquisadores de São Paulo que já se tinham notabilizado por vários e interessantes trabalhos, ALEXANDRINO PEDROSO e JOSÉ MARIA GOMES, publicaram em 1920 um bem documentado artigo: "Sobre quatro casos de dermatite verrucosa por *Phialophora verrucosa*". Apesar do título, entretanto, nem no texto do trabalho, nem nas estampas que o acompanhavam, se encontrava qualquer coisa que justificasse a identificação do cogumelo isolado como sendo um *Phialophora*, tal como era esse gênero então definido. Por essas publicações é que se veio a saber que já em 1911 a doença tinha sido observada por PEDROSO, em cujo laboratório ela era designada como "blastomicose negra". O cogumelo isolado desse primeiro caso paulista foi entregue para estudo a EMILE BRUMPT, então professor de parasitologia na Faculdade de Medicina de São Paulo. A um primeiro exame, o professor francês considerou tratar-se de um *Hormodendrum* ou de

um *Cladosporium*. Havendo irrompido em 1914 a primeira guerra mundial e sendo mobilizados os cidadãos dos países em luta residentes no Brasil, tinham sido ao mesmo tempo interrompidos os estudos tanto de BRUMPT como de MAX RUDOLPH. O estudo micológico, publicado em 1920, por PEDROSO e GOMES, foi baseado sobretudo no segundo caso desses autores, o qual foi observado em 1919.

Em 1921, JOSÉ MARIA GOMES assinala um novo caso da doença e regista a denominação de "formigueiro", pela qual é ela designada no interior do Estado de São Paulo.

Depois desses factos, em 1922, na 3.ª edição de seu já então clássico *Précis de Parasitologie*, EMILE BRUMPT menciona o cogumelo isolado em São Paulo, mas o faz com dois nomes e duas classificações diferentes. Em uma página, o grande parasitologista adopta para o miceto dos casos brasileiros, como antes já haviam feito PEDROSO e GOMES, o nome e a classificação do parasito norte-americano, *Phialophora verrucosa*. Noutro ponto do livro, baseando-se numa das formas de frutificação do cogumelo que examinara em São Paulo, coloca o mesmo cogumelo num outro gênero, para ele estabelecendo uma nova espécie, a que deu o nome de *Hormodendrum Pedrosoi*. Mas, além dessa discrepância, a nova denominação vinha desacompanhada de qualquer descrição e de qualquer referência explícita a uma descrição anterior, o que dela fazia desde logo o que, em nomenclatura botânica, de acordo com as regras internacionalmente adoptadas, se chama um "nome nu" (*nomen nudum*).

Essa a história das pesquisas sobre cromoblastomicose (nome que até então não aparece na literatura médica ou leiga), antes dos pesquisadores de Manguinhos intervirem na questão.

Em 1922, estávamos nós dando início à organização do Laboratório de Micologia do Instituto Oswaldo Cruz, quando um dos primeiros problemas que nos foram trazidos para estudo e possível solução foi o de um caso da Clínica Dermatológica e Sifilográfica da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, a cargo do Prof. FERNANDO TERRA. Material de biópsia desse caso fora levado a Manguinhos pelo Dr. ANTONIO EUGÊNIO DE ARÊA-LEÃO e entregue para exame histo-patológico ao Dr. CARLOS BASTOS DE MAGARINOS TORRES, que nos cortes histológicos encontrara corpúsculos de cor negra ou castanha, muitas vezes incluídos em células gigantes, os quais até então nunca tinha observado. Chamado por TORRES a examinar os preparados microscópicos em questão, neles reconhecemos o quadro descrito por LANE e MEDLAR cujos trabalhos conhecíamos. Por essa época ainda não tomáramos conhecimento das publicações de PEDROSO e GOMES, o que se explica pela demorada permanência que acabáramos de fazer no estrangeiro. Ficou então combinado que estudaríamos o assunto clínica, histo-patológica e micologicamente, publicando os resultados num trabalho de colaboração. Obtida do Prof. FERNANDO TERRA a autorização para nos ocuparmos do paciente que, como caso clínico, a ele pertencia, resolvemos TORRES e nós, que se associasse o seu nome na autoria do trabalho a publicar, o mesmo fazendo em relação ao Dr. ARÊA-LEÃO que nos trouxera o material de biópsia para exame. Nós pessoalmente nos encarregamos de examinar o paciente, de descrever-lhe a doença sob o ponto de vista clínico e de procurar isolar o cogumelo responsável, o que com toda a facilidade conseguimos. Enquanto isso, a TORRES cabia descrever o quadro histo-patológico observado.

Em repetidos exames, isolamos desse nosso primeiro caso sempre um e mesmo cogumelo que, para surpresa nossa, verificamos ser diferente do encontrado no paciente de LANE e MEDLAR. Classificamo-lo num gênero à parte, que não era um gênero novo, *Acrotheca* FUCKEL. Quanto à espécie poderíamos validamente descrevê-la como nova e isto estaria de acordo com as regras de nomenclatura botânica internacionalmente adoptadas. Entretanto, duas razões tínhamos para o não fazer. A primeira é que não haveria vantagem em aumentar ainda mais a já sobrecarregada e confusa nomenclatura que torna a micologia médica tão difícil de estudar-se. A segunda razão é que se considera de melhor ética revalidar um nome que se tem razões para crer seja correctamente aplicado, do que criar um nome novo sem considerar os trabalhos realizados pelos antecessores. Assim, preferimos, em homenagem ao nosso mestre EMILE BRUMPT e ao ilustre médico e pesquisador brasileiro que foi ALEXANDRINO PEDROSO, revalidar a espécie *Pedrosoi*. O fungo em questão foi então por nós e ARÊA-LEÃO chamado *Acrotheca Pedrosoi*.

Estava assim demonstrado, pela primeira vez com dados positivos e provas em apoio, que a etiologia da doença não era unívoca e que podia ela ser produzida por mais de uma espécie de cogumelo.

Restava ainda um outro problema de nomenclatura a resolver, esse relativo à própria entidade nosológica de que nos ocupávamos.

Não estando nós muito propenso a criar nomes novos, pensamos a princípio em descrever aquele caso, como o haviam feito LANE e MEDLAR e como o fizeram também PEDROSO e GOMES, sob a rubrica de "dermatite verrucosa". Vimos logo, entretanto, que essa denominação correspondia antes a uma

síndrome clínica que podia ser provocada pela tuberculose (*tuberculosis verrucosa cutis*), pela filariose, por bactérias banais, por leishmaniose e, como acabávamos de comprovar, por mais de uma espécie de cogumelos. Além disso, nem todas as lesões do nosso paciente eram verrucosas. Discutimos o assunto, nós mesmo e TORRES, este insistindo (vimos depois que tinha razão) na vantagem que havia em dar à doença um nome que indicasse sua etiologia e patogenia. Então, tendo em vista a cor natural do parasito na lesão e os aspectos clínicos e histológicos da doença, muito semelhantes aos observados nas imprópria mas consistentemente chamadas "blastomicoses", sugerimos a TORRES o nome de "cromoblastomicose". Que se justificava a nova denominação, apesar de nela se incluir o termo, reconhecidamente impróprio, de "blastomicose", resulta até mesmo do facto de já no laboratório de PEDROSO ter sido a doença qualificada de "blastomicose negra", o que indica quão impressionante era a semelhança dos quadros clínico e histo-patológico da nova doença com o das impropriamente chamadas "blastomicoses". É de notar-se, todavia, que em seu trabalho definitivo, PEDROSO e GOMES vieram a rejeitar aquela expressão, dizendo: "Para a denominação da moléstia de que nos ocupamos, a palavra blastomicose bailou em nosso espírito, logo que tivemos ocasião de observar o primeiro caso, porém resistimos à tentação para não nos tornarmos cúmplices daqueles que tanta confusão têm trazido a esse termo".

Conquanto a tivéssemos nós mesmo proposto, logo objectamos que "cromoblastomicose" era uma palavra demasiado longa. Mas, imediatamente aceito por TORRES, foi afinal lançado o nome, pelos inconvenientes e impropriedade do qual somos nós o único responsável.

Mas, um nome, seja qual for, apropriado ou impróprio, tem uma força ingênita, que dá realce aos factos e às coisas, comunica-lhes importância e acentua-lhes o significado. Não resta dúvida que esse nome tão criticado de cromoblastomicose e os trabalhos elaborados em Manguinhos e na velha 19.ª enfermaria do Hospital da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro, muito tenham concorrido para chamar a atenção dos meios médicos e científicos para a entidade mórbida que se acabava de definir. E, de facto, logo após as publicações do Instituto, começaram a surgir outras em que se fazia *a posteriori* o diagnóstico de cromoblastomicose e se alegava terem já sido vistos casos dessa doença, os quais, contudo, até então não tinham sido publicados. Nesse número estão os observados em São Paulo por JESUINO MACIEL e por ANTONIO CARINI, este último, como antes o fizera MAX RUDOLPH, estendendo a noção de cromoblastomicose a manifestações patológicas observadas em outras espécies animais. Procurou-se identificar também a cromoblastomicose ao "pé musgoso" (*mossy foot*) observado na Amazônia por H. WOLFERSTAN THOMAS, cuja etiologia não foi determinada, mas que parece corresponder a várias entidades mórbidas diferentes.

Logo depois da inserção, em 1922, no *Brasil-Médico*, do artigo que sobre o assunto publicamos com FERNANDO TERRA, MAGARINOS TORRES e ARÊA-LEÃO, e sobretudo depois da nota que, em 1923, com ARÊA-LEÃO estampamos nos *Comptes rendus de la Société de Biologie*, de Paris, começaram a aparecer na literatura médica mundial trabalhos sobre cromoblastomicose, já então com esse nome, sendo a doença assinalada em muitos países da América do Norte e do Sul, na América Central, na Rússia, na Alemanha, em Cuba, em Porto-Rico, em Sumatra, no Japão, na África do Sul, enfim um pouco por toda parte.

Como era de esperar, a propriedade do nome de "cromoblastomicose", para a doença que LANE e MEDLAR e, depois, PEDROSO e GOMES tinham descrito sob a denominação de "dermatite verrucosa", foi criticada por alguns autores, uma vez que o agente etiológico encontrado não se reproduzia por gemulação, não sendo, na acepção vaga que o termo adquirira, um blastomiceto. Mas, aceita essa crítica, teria ela que ser estendida à blastomicose norte-americana ou doença de Gilchrist e à blastomicose sul-americana ou doença de Lutz, que, uma e outra, também não são produzidas por blastomicetos ou cogumelos gemulantes.

Nenhuma melhor análise dessa questão de nomenclatura nosológica do que a feita pelo Dr. C. W. EMMONS e por seus colaboradores HOWARD HARLEY e HUGH HARLEY. Dizem eles:

"MOORE has proposed to change the name of the disease to "chromomycosis", because as has been pointed out by many investigators, the fungus does not grow in the tissue by budding. The criticism is valid but the importance one attaches to it depends on how strictly the prefix "blasto" is defined. This prefix connotes a budding type of growth but in practice has been used loosely...

"... In American blastomycosis the ressemblance to yeasts is greater, but here too differences are apparent... In short, both blastomycosis and chromoblastomycosis can be criticized as inapropriate terms, since neither is caused by a true budding or yeastlike fungus. There seems to be little more reason for rejecting one than the other.

"The disease was named chromoblastomycosis because of its resemblance to American blastomycosis, the prefix indicating that the etiologic agent was pigmented. There are further newly emphasized reasons for retaining the old name which express this relationship... that many cases of chromoblastomycosis, particularly those in temperate climates, bear a close clinical resemblance to blastomycosis. There is, therefore, perhaps, more justification on these grounds for the name now than when it was first used. The criticism listed here do not appear to us sufficient reason for changing the name, especially since it has not been a source of confusion".

Quanto ao nome "cromomicose", proposto por MORRIS MOORE e FLORIANO DE ALMEIDA, para substituir o de "cromoblastomicose", dizem EMMONS e seus colaboradores: "There are definite objections to the name "chromomycosis". It focuses attention more sharply on the prefix and would indicate that the disease is one which is characterized primarily by pigment changes in the infected tissues. Finally, the name is too nearly like the name "chromophytosis" (tinea versicolor) which is a fungous disease or group of related diseases characterized by just such pigment changes in the skin and wholly unlike blastomycosis or chromoblastomycosis".

Na oportunidade da apresentação do trabalho de EMMONS e seus colaboradores, o ilustre dermatologista e micologista médico, JOSEPH GARDNER HOPKINS, discutiu o assunto sob um outro ponto de vista, dizendo: "A third point that appealed to me in the report was the resistance of the authors to the temptation to change names. The thing that has done more to make mycology difficult and thereby has retarded its development has been the tendency to take well known fungi and fungous diseases and give them new names. It is this pernicious tendency which makes the litterature of mycotic infections so extremely difficult to read intelligently and to evaluate at all".

Essa defesa... não encomendada, do nome que propusemos para a doença, feita como foi por alguns dos mais autorizados mestres da micologia médica, nos dispensaria de ainda mais nos alongarmos nessa questão, se não fora o artigo de um outro reputado especialista americano, um vanguardeiro das pesquisas sobre micologia médica, FRED D. WEIDMAN, de Filadelfia, que, em 1941, com L. H. ROSENTHAL, deu ao seu trabalho o título expressivo de "Chromoblastomycosis: a new and important blastomycosis in North America" e nele escreveu que: "For a long time the known tissue changes remained almost entirely those of verrucous dermatitis of the legs, but during the last seven years data have been accumulated from a number of cases which have shown different pictures frequently enough to demonstrate that the dermatologic features of the disease are not uniform and simple". Aí está a justificativa do novo nome "cromoblastomicose" para substituir a designação, originariamente usada por LANE e MEDLAR, de dermatite verrucosa, que não poderia ser mantida para uma doença que se mostra na realidade polimorfa. Isto é sobretudo verdade, após a descoberta das localizações encefálicas da cromoblastomicose, descritas nos Estados Unidos, no Japão e em outros países por vários autores e tendo como agentes causais *Cladosporium trichoides* (? = *C. Bantianum*), *Fonsecaea Pedrosoi*, *Phialophora verrucosa* e talvez ainda outras espécies de cogumelos.

Ao contrário do que em parte ainda ocorre no Brasil, parece fora de dúvida que na literatura médica internacional actualmente prevaleça para esta doença o nome de "cromoblastomicose", com os inconvenientes que todos (inclusive nós mesmo, que o propusemos) lhe reconhecem de ser longo e de incluir o malsinado prefixo "blasto" que há século e meio atormenta os micologistas, mas com a vantagem de ser muito mais preciso e descritivo que quaisquer outras denominações até agora empregadas: blastomicose negra, dermatite verrucosa, cromomicose, dermatite verrucosa cromomisósica, dermatite verrucosa por *Phialophora verrucosa*, dermatite verrucosa blastomicótica, doença de Pedroso, doença de Fonseca, doença de Gomes, doença de Pedroso e Carrión, sem falar nos nomes vulgares de "figueira" e "formigueiro".

Não teríamos dúvida em subscrever o que diz NORMAN F. CONANT, no *Manual of Clinical Mycology*, publicado em colaboração com D. S. MARTIN, D. F. SMITH, R. D. BAKER e J. L. CALLAWAY:

"The name chromoblastomycosis is misleading because the organism does not form buds (*blastospores*) in tissue or culture. The organism has a brownish color when seen unstained in the tissues, but this does not warrant the name chromomycosis which implies that the lesions have a characteristic color. The term "chromoblastomycosis" has been retained because it has become established so firmly in the literature".

Com o tempo se foram conhecendo outros agentes etiológicos de cromoblastomicose, bem como descobrindo as formas de frutificação em que se baseiam os "gêneros morfológicos" desses cogumelos imperfeitos, formas essas que são simplesmente modos assexuados de multiplicação de Ascomicetos cujo processo sexuado de reprodução agora apenas começa a ser conhecido. Até hoje o que se sabe da

sexualidade dos fungos produtores de cromoblastomicose está no trabalho de CESAR A. FUENTES e FREDERICK A. WOLLF (1956) que descrevem a forma perfeita de desenvolvimento de *Fonsecaea Pedrosoi* como correspondendo ao gênero *Microascus* e sinônimo de *M. cinereus*. Por isso mesmo, toda a nomenclatura desses cogumelos imperfeitos, i.e., micetos de que não é conhecido o processo de reprodução sexuada, deve ser considerada provisória. É de notar-se, entretanto, que o tipo de frutificação que descrevemos como caracterizando o gênero *Acrotheca* (que hoje se identifica com *Ramularia*), já foi encontrado (P. BERTHET, 1964) como uma das formas imperfeitas (outra correspondia a *OEdocephalum*) de um Discomiceto da família das Aleuriáceas, a *Galactinia micropus* (PERSOON *ex* FRIES) SVCEK.

Também se comprovou que diferentes formas de reprodução assexuada podem coexistir nos diversos agentes produtores de cromoblastomicoses. Daí, duas orientações divergentes que se verificam hoje na sistemática desses cogumelos.

Baseando-se nessa ocorrência das diversas formas reprodutivas, o ilustre micólogo Prof. PABLO NEGRONI, em 1936, na República Argentina, estabeleceu o gênero *Fonsecaea* para a espécie *Hormodendrum* ou *Acrotheca Pedrosoi*. Esse gênero teve sua diagnose ampliada, ou, como se diz em linguagem de botânica e de zoologia sistemática, emendada, por outro provecto especialista, o Prof. ARTURO L. CARRIÓN, passando a incluir espécies com três tipos de frutificação — *Acrotheca* ou *Ramularia*, *Phialophora* e *Hormodendrum* ou *Cladosporium* e a compreender pelo menos duas espécies: *Fonsecaea Pedrosoi* e *F. compactum*, esta última que CARRIÓN descrevera de casos de cromoblastomicose, sob o nome de *Hormodendrum compactum*. Para incluir a espécie *Fonsecaea* (= *Hormodendrum*) *Pedrosoi*, em 1939, criou ainda BRICEÑO-IRRAGORRY um novo gênero *Carrionia*.

Seguindo outra orientação, o nosso mestre CHARLES THOM e, depois dele, o conceituado micólogo dos Institutos Nacionais de Saúde, de Bethesda, Md., CHESTER W. EMMONS, consideraram que todos estes micetos apresentam grandes afinidades entre si e devem ser reunidos em um só gênero, que a lei de prioridade, instituída por DE CANDOLLE e admitida, quase sem excepções, por todos os botânicos e zoólogos, manda seja o mais antigo, desde que o seu nome não esteja pre-ocupado, isto é, não tenha sido anteriormente empregado para designar outro ser vivo do mesmo reino, vegetal ou animal. No caso vertente, não resta dúvida de que o gênero mais antigo é *Phialophora* MEDLAR. Já o mesmo não acontece, como mostrou LUÍZA DE ARAÚJO PAULA em 1960, com o gênero *Hormodendroides*, o qual, com o mesmo significado que *Fonsecaea*, foi criado ulteriormente por MORRIS MOORE e FLORIANO P. DE ALMEIDA.

As duas orientações discordantes encontram expressão no que escreveram duas autoridades no assunto.

De um lado, diz EMMONS (1944): "It is apparent from several recent publications that a change in the name of *H. pedrosoi* is necessary. NEGRONI proposed the new name *Fonsecaea pedrosoi*. If no other name has priority there is considerable merit in this proposal which substitutes a new generic name for several older and unsuitable names and honors one of the South American investigators who have made notable contributions to the knowledge of this disease". Mas, em vez de emendar, como fizera CARRIÓN, o gênero *Fonsecaea* para incluir certas amostras que apresentam o tipo *Phialophora* de frutificação, achou EMMONS preferível emendar o gênero *Phialophora*, para nele incluir o antigo *Hormodendrum* ou *Fonsecaea Pedrosoi*, concordando com THOM pela unidade dos dois gêneros e a prioridade de *Phialophora*.

Todavia, com esse ponto de vista não concordou CARRIÓN que, em 1950, escreveu: "However, after years of painstaking work in our laboratories, the synonymy of these names became firmly established, and the binomial *Fonsecaea Pedrosoi*, proposed by NEGRONI, of Argentina, has been accepted as the most convenient name until the perfect form of the fungus becomes known".

A esta última conclusão tinham anteriormente chegado FRED D. WEIDMAN e L. H. ROSENTHAL (1941) e a mesma orientação foi seguida, entre outros, por ALFONSO TREJOS (1954) em Costa Rica, LUÍZA DE ARAÚJO PAULA (1960) no Brasil, e MORRIS A. GORDON e YOUSEF AL-DOORY (1965). A. TREJOS, em Costa Rica, e LUÍZA DE ARAÚJO PAULA, no Brasil, fizeram, cada qual de per si, quase exaustivas revisões de toda essa complicada questão de nomenclatura micológica.

Mas, de tudo isso, com sua inexcedível competência e autoridade, numa conferência sobre os agentes produtores de cromoblastomicose, conferência intitulada "Naming moulds" ("Dando nome a bolores"), pronunciada em 1940, na Academia de Ciências de Washington, CHARLES THOM fez uma crítica muito judiciosa. Relembrou então também que dentre esses agentes de cromoblastomicose estão cogumelos que atacam madeiras e que foram colocados no gênero *Cadophora* MELIN *et* NANNFELDT, cuja espécie-tipo, *C. americana*, é o próprio *Phialophora verrucosa*, com o qual ela cai em sinonímia. Hoje é geralmente admitido que os

mais comuns produtores de cromoblastomicose sejam, por ordem de frequência: *Fonsecaea Pedrosoi*, *Phialophora verrucosa* e *Fonsecaea compactum*. Além destas, foram descritas, entre outras, como produzindo formas cutâneas da doença *Torula poikilospora* e *Hormiscium dermatitidis* no Japão e *Cladosporium Carrioni* em Costa Rica. Nos Estados Unidos se isolaram espécies indeterminadas de *Hormodendrum* (=*Cladosporium*) e um fungo que foi comparado a uma *Candida* negra (*sic*), o qual talvez seja algo próximo ou semelhante a *Pullularia* (=*Dematium*) *pullulans*, forma esta última cujas relações com *Cladosporium*, *Torula* e outras demaciáceas está ainda por determinar. Da forma cerebral da doença, de que muitos casos já foram observados, foram isolados *Cladosporium trichoides* (=? *C. Bantianum*), *C. Gougeroti* (=*Sporotrichum Gougeroti*) e *Phialophora verrucosa*. De lesões ungueais, *Fonsecaea Pedrosoi* foi isolado na Bahia por LUÍZA DE ARAÚJO PAULA. Esta última espécie foi também por nós encontrada como contaminante de culturas no laboratório.

Em resumo, a contribuição de Manguinhos para o conhecimento da cromoblastomicose consistiu: a) na individualização da doença como entidade nosológica distinta, aplicando-se-lhe um nome que logo a identificou, separando-a do grupo confuso das dermatites verrucosas de causas múltiplas; b) na demonstração, até então não realizada, de que a doença é devida a mais de um agente etiológico; c) no acréscimo de conhecimentos sobre as características clínicas e histo-patológicas da doença; d) no acréscimo à sua casuística.

DEBARIOMICOSES: OS LÊVEDOS DE SANFELICE E DE HUDELO

Para distingui-las das chamadas "blastomicose norte-americana" e "blastomicose sul-americana" ou "brasileira", que se viriam a denominar depois, respectivamente, "doença de Gilchrist" e "doença de Lutz", nos primeiros decênios do século XX grupavam-se sob a designação global de "blastomicoses européias", pois até certa época só na Europa tinham sido observadas, as granulomatoses produzidas por lêvedos verdadeiros. Estas doenças eram representadas pelos casos, raros e tornados clássicos, de OTTO BUSSE (1894), de ABRAHAM BUSCHKE (1898), de PAUL VUILLEMIN e L. LEGRAIN (1900), de HUDELO, RUBENS DUVAL e LAEDERICH e, talvez, alguns mais. A estas últimas micoses, produzidas por lêvedos verdadeiros, é que com uma certa propriedade caberiam as denominações de "blastomicoses", que só a elas foram inicialmente aplicadas por PAUL VUILLEMIN, e de "granulomatoses blastomicósicas" que lhes demos, para distingui-las das granulomatoses blastomicóides que incluiam, além de outros, aqueles dois tipos de micose acima mencionados.

Em 1922, trabalhávamos nós no laboratório de ALEXANDRE GUILLIERMOND, então ainda professor titular de botânica na Faculdade de Ciências da Universidade de Lyon (logo depois conquistou a cátedra da mesma disciplina da Sorbonne, na Faculdade de Ciências de Paris), quando aquele nosso mestre e famoso citologista que tantos progressos trouxera ao conhecimento da sexualidade das leveduras, nos entregou para estudo algumas dezenas de amostras dessa categoria de micetos. Dentre estas amostras, figurava uma cultura do lêvedo isolado por L. HUDELO, H. RUBENS DUVAL e L. LAEDERICH, que LUCIEN DE BEURMANN e H. GOUGEROT, em 1909, tinham denominado *Atelosaccharomyces Hudeloi*.

Estudando essa amostra, verificamos que se não tratava de uma levedura imperfeita, de um *Atelosaccharomyces*, uma vez que nela descobrimos o processo sexuado de reprodução por adelfogamia que, como o nome indica, é a fusão completa e definitiva de duas células irmãs, i.e., oriundas da divisão de uma célula-mãe: brotamento e fusão subsequente do broto ou gêmulo com a célula que lhe deu origem. Assim, se constitui um asco, no interior do qual nasce um ascospório único de parede rugosa. É esse o processo perfeito de reprodução que caracteriza os *Debaryomyces*. Feita essa verificação, ainda de Lyon enviamos ao *Brasil-Médico*, que era então órgão oficial das publicações do Instituto Oswaldo Cruz, uma nota prévia intitulada *Sobre os agentes das blastomicoses européias. Ciclo sexuado e posição sistemática do lêvedo de Hudelo*, nota essa que foi logo publicada naquele periódico (a. 36, n. 2, pág. 101, 1922).

Foi essa a primeira demonstração da ocorrência de um processo sexuado de reprodução em leveduras patogênicas para o Homem e produtoras de blastomicoses. Foi também a primeira comprovação de que as então chamadas "blastomicoses européias", ou pelo menos algumas delas, eram produzidas por *Debaryomyces*, gênero de que até então não se conheciam espécies produtoras de doenças do Homem ou de outros animais.

Somente quatorze anos depois da nossa publicação, veio a ser repetida e confirmada essa demonstração. Em 1936, na Universidade de Iowa, RAMONA L. TODD e WALTER W. HERRMANN, estudando diferentes estirpes da levedura então correntemente

designada como *Torula histolytica* ou *Cryptococcus hominis*, estirpes isoladas do líquido céfalo-raquiano de pacientes com afecções do sistema nervoso central, puderam nelas comprovar o mesmo processo de reprodução sexuada que descrevêramos em 1922 no lêvedo de Hudelo. Consequentemente, transferiram os micetos em que ele ocorria para o gênero *Debaryomyces*.

Entrementes, os trabalhos de JACOMINA LODDER, a ilustre especialista em leveduras do *Centraalbureau voor Schimmelcultures*, de Baarn, na Holanda, em 1934, tinham demonstrado que o cogumelo denominado *Atelosaccharomyces Busse-Buschkei* por DE BEURMANN e GOUGEROT em 1909 (o mesmo que COSTANTIN, em 1901, chamara *Saccharomyces hominis*), a *Torula histolytica* que STODDARD e CUTLER descreveram em 1916, e provavelmente outras espécies patogênicas para o Homem, eram idênticas ao cogumelo descrito em 1895 por SANFELICE sob o nome de *Saccharomyces neoformans*. SANFELICE tinha isolado essa espécie de frutas em fermentação e, na procura de um agente etiológico dos cânceres, demonstrara experimentalmente sua acção patogênica para animais de laboratório. Até então não se tinha a menor idéia de que pudesse ela produzir doenças do Homem. Fora colocada no gênero *Saccharomyces* porque até fins do século XIX, neste se incluiam quase todas as leveduras. Descobertas as formas perfeitas de reprodução destes micetos e não se as tendo por muito tempo encontrado na espécie de SANFELICE, foi ela transferida para o gênero *Torulopsis* criado em 1894 por BERLESE para leveduras anascosporuladas. Também foi ela incluída por muitos especialistas de micologia médica num gênero *Cryptococcus*, o qual só existe em nomenclatura botânica como "nome nu" (*nomen nudum*), aplicado em 1833 por KUETZING a espécies microscópicas, que não se podem hoje identificar, de algas de vida livre, cujo tipo é *Cryptococcus mollis* KUETZING.

Depois do trabalho, em que mostramos que o lêvedo de Hudelo era um *Debaryomyces*, também a espécie de SANFELICE foi transferida para esse gênero, levantando-se a questão de se saber se não seriam elas idênticas, caso em que a denominação específica *neoformans*, como mais antiga, teria prioridade. Vários autores, entretanto, duvidam dessa identidade, sendo que LODDER considera o lêvedo de Hudelo uma variedade de *Debaryomyces Klocckeri*.

De qualquer modo os trabalhos nossos (1922) e de RAMONA TODD e WALTER HERRMANN (1936) deixaram fora de dúvida que as antigamente chamadas "blastomicoses européias", que hoje se sabe serem cosmopolitas e se caracterizarem principalmente pelas lesões do sistema nervoso central, são produzidas por leveduras do gênero *Debaryomyces*. Daí as denominações de "debariomicoses" e de "granulomatoses debariomicósicas", que REDAELLI e CIFERRI, na Itália, passaram a empregar, correctamente substituindo os termos "torulose" e "criptococose", baseados em nomes erradamente aplicados aos agentes produtores dessas doenças.

É interessante transcrever aqui o comentário de REDAELLI e CIFERRI, a esse propósito feito no seu excelente livro sobre granulomatoses micósicas: "Più interessanti per noi, ai fini della genesi di forme granulomatose o ritenuti tali, sono i seguenti stipiti: il *Debaryomyces Hudeloi* (GOUGEROT) FONSECA, 1922, isolato da un caso di blastomicosi a focolai multipli clinicalmente più o meno simile, alle forme indotte dal *Debaryomyces neoformans*; questo caso è già da noi riportato tra i contributi della granulomatosi debariomicosica pur con le riserve circa la vera precisazione della specie che solo sotto alcuni punti di vista si aviccina al *D. neoformans*".

DOENÇA DE LUTZ

Distinguindo-a de outras granulomatoses blastomicóides neotrópicas, em particular das benignas que têm como protótipo a doença de Jorge Lobo, propusemos os nomes de *micose* ou *doença de Lutz* para a entidade mórbida que era e continua sendo conhecida como blastomicose brasileira ou sul-americana.

Antes de se transferir para Manguinhos, ADOLPHO LUTZ, em São Paulo, desde 1904 a tinha observado e em 1908 dela deu a primeira descrição, assinalando-lhe as localizações na pele e nas mucosas nasal e bucal. Também então descreveu o parasito que a produz, registando seu característico modo de reprodução por meio de espórios exógenos dispostos em toda a superfície dos elementos encontrados no pus e nos tecidos doentes. Isolando o fungo em cultura pura, apresentou LUTZ uma boa descrição do aspecto macroscópico das colônias. Entretanto, provavelmente por não ter podido situá-lo nas classificações micológicas existentes, LUTZ não deu um nome ao miceto que tão bem descrevera.

Em 1910, um colaborador de LUTZ no Instituto Bacteriológico de São Paulo (o actual Instituto Adolpho Lutz), ALFONSO SPLENDORE, que já se ilustrara por muitos outros trabalhos no campo da

microbiologia, publicou o resultado de pesquisas realizadas em quatro casos de uma micose, por ele identificada com a descrita por LUTZ. Nesses casos, descreveu SPLENDORE os parasitos encontrados nas lesões ora com as características assinaladas no miceto de LUTZ ("gemmazione periferica"; "non di rado gemmati alla periferia") ora se apresentando "allungate e quasi rettangolari, ricordanti alcuni elementi che si sogliono presentare negli oidi" ou, então "spesso aggrupati o legati in catena di 4 o 5 elementi", o que não corresponde ao observado na doença de Lutz e se verifica em micoses de outro tipo cuja existência no Brasil, com ARÊA-LEÃO, assinalamos. Dos pacientes estudados, isolou SPLENDORE leveduras contaminantes que, evidentemente, pertenciam a mais de uma espécie (uma descreveu ele, considerando-a variedade) e que declarou expressamente serem o agente etiológico da doença. Esses contaminantes, reuniu-os SPLENDORE às formas encontradas nos tecidos de seus pacientes, tudo isso descrevendo como representando uma só espécie a que deu o nome de *Zymonema brasiliense*. Designando esse nome uma mescla de diferentes espécies de cogumelos, a denominação proposta por SPLENDORE é o que, de acordo com as regras de nomenclatura botânica, se chama um "nome confuso" (*nomen confusum*), isto é, um nome de início aplicado a duas ou mais espécies diferentes. Sendo um nome confuso, de acordo com as supracitadas regras de nomenclatura é *Zymonema brasiliense* também um "nome nulo" (*nomen nullum*) e, como tal, sua denominação específica *brasiliense* não pode servir para designar qualquer espécie e, muito menos, a espécie-tipo de um novo gênero que tenha sido ou venha a ser proposto. Foram essas as razões que nos levaram a não reconhecer como válido o gênero *Paracoccidioides*, criado em 1930 pelo Dr. FLORIANO P. DE ALMEIDA e baseado na espécie nula de SPLENDORE. Uma revisão de toda a literatura sobre o assunto nos permitiu chegar à conclusão de que o primeiro nome específico validamente utilizado para o miceto da doença de Lutz é *Zymonema histosporocellularis* que HABERFELD propôs em 1919. Por isso, em 1939, nele baseamos o novo gênero *Lutziomyces*.

As mesmas razões que impedem de aceitarmos o gênero *Paracoccidioides* valem para que se não adopte o gênero *Adenomyces*, criado em 1914 por EZEQUIEL DIAS e cuja análise fizemos em páginas anteriores. Recusado esse nome genérico, o terá que ser por basear-se em uma espécie, *A. Cruzi*, que é uma mescla de vários micetos, além de bactérias contaminantes.

Este problema que vimos discutindo, de nomenclatura, na verdade está longe de ser o de uma simples escolha entre denominações mais ou menos impróprias ou adequadas. Ao contrário, envolveu ele a revisão de todas as descrições publicadas do parasito, sua identificação e a da doença por ele produzida. E mais ainda, não se pode afirmar que a respeito se tenha dito ou escrito a última palavra, pois até agora não são conhecidas as formas perfeitas de reprodução dos cogumelos, produtores de várias das granulomatoses blastomicóides.

Recordaremos aqui que foi diante das dificuldades acima expostas, que nós muito bem conhecíamos e que nem sempre foram percebidas ou devidamente tomadas em consideração por outros e mais apressados autores, que preferimos adoptar, como antes de nós já haviam feito ADOLPHO LUTZ e GASPAR VIANNA, uma atitude reservada e cautelosa. Embora já há muito estivéssemos convencido da necessidade de estabelecer um novo gênero para o cogumelo da doença de Lutz, que o distinguisse do *Coccidioides immitis*, agente produtor da granulomatose coccidioidica, não nos julgávamos ainda capacitado para dar uma solução acertada à questão. Não desejávamos precipitar-nos e simplesmente com o fito de garantirmos uma irrelevante prioridade, corrermos o risco de estabelecer um novo genero não solidamente fundamentado. E, se o tivéssemos querido fazer, nenhuma melhor oportunidade teríamos do que a que nos ofereceu o nosso eminente colega e amigo, Prof. ERNESTO DE SOUZA-CAMPOS, em seu próprio nome e no do seu colaborador, Dr. FLORIANO PAULO DE ALMEIDA. Sabedor de nossa opinião, com a maior lealdade, SOUZA-CAMPOS insistentemente nos convidou para nos associarmos na publicação de um trabalho no qual seria estabelecido um novo gênero para o parasito em questão. Só depois de nos termos repetidamente excusado, declarou-nos SOUZA-CAMPOS que, diante da nossa recusa, o trabalho teria que ser publicado sem a nossa colaboração e co-autoria. Foi o que sucedeu, saindo a publicação em que se criava o gênero *Paracoccidioides* subscrita somente por FLORIANO DE ALMEIDA, uma vez que tampouco SOUZA-CAMPOS a assinou.

Por termos tomado essa atitude, em publicações sucessivas e por diversos autores, fomos explícita ou implicitamente alvo de críticas. Ocupado com outros trabalhos, a nenhuma delas respondemos, só dez anos depois nos tendo abalançado a retomar o estudo da questão e a rever toda a literatura sobre o que então denominamos doença de Lutz, estabelecendo para o seu parasito o gênero *Lutziomyces*, baseado no *Zymonema histosporocellularis*, cuja designação específica é cronologicamente a primeira validamente aplicada àquele cogumelo.

As contribuições do Instituto Oswaldo Cruz para o conhecimento da micose de Lutz não se limita-

ram, porém, a essa questão de nomenclatura que, aliás, como dissemos, envolvia a da distinção entre duas enfermidades e seus parasitos.

Nos seus últimos anos de vida, muito se ocupou GASPAR VIANNA com o estudo desta entidade mórbida. Em um trabalho publicado em colaboração com MIGUEL PEREIRA e, depois, na tese que para obtenção da docência-livre apresentou à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, GASPAR VIANNA traçou pela primeira vez em linhas gerais todo o quadro clínico e anátomo-patológico da doença, esclarecendo sua patogenia e mostrando que, após as localizações cutâneo-mucosas iniciais, a infecção se propagava por via linfática, antes de, numa fase final hematogênica, se espalhar por todo o organismo. Ficavam assim completados os estudos de SPLENDORE, os quais já deixavam entrever a existência de localizações múltiplas da infecção, quando esse autor assinalava a existência de sinais clínicos de localização pulmonar e a presença de formas parasitárias no escarro e na urina dos pacientes.

Foi tal o interesse de GASPAR VIANNA pelo estudo do que se veio depois a chamar doença de Lutz, que chegou ele, a dar em 1914, para um pequeno grupo de alunos do qual tivemos o privilégio de fazer parte, um curso só a ela dedicado, o qual se realizou na 19.ª enfermaria do Hospital Geral da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro, onde funcionava a cátedra de Dermatologia da Faculdade de Medicina.

Mais tarde, pudemos nós também trazer algumas contribuições para o conhecimento da doença de Lutz, distinguindo os dois grupos de formas clínicas que, evidentemente, ao contrário do que interpretaram REDAELLI e CIFERRI (*), não são estanques e podem representar, como quase sempre representam, apenas fases evolutivas da doença: as formas linfático-tegumentares e as formas linfático-viscerais. É essa nossa classificação, aliás, a adoptada no grande tratado francês de dermatologia, a *Nouvelle Pratique Dermatologique*. Vieram mais tarde outras e mais completas e minuciosas classificações, dentre elas a de CUNHA-MOTTA, que tampouco pretendeu estabelecer quadros anátomo-clínicos estanques, e, ainda, a que esse mesmo autor e AGUIAR-PUPO propuseram para as formas tegumentares. Também, quando outros autores brasileiros afirmavam que na doença de Lutz eram raras as localizações pulmonares e que isso a distinguia da granulomatose coccidioídica, nós insistíamos no facto, depois amplamente confirmado, de que tais localizações são frequentíssimas, se não constantes, nos casos avançados da micose. Em vários trabalhos em colaboração com ARÊA-LEÃO, pudemos trazer maior precisão à descrição do parasito, mostrando o efeito que sobre a morfologia do cogumelo tem a presença ou ausência de hidrocarbonados nos meios de cultura. Também com ARÊA-LEÃO, pudemos estabelecer métodos de diagnóstico imunológico da doença, pelas reacções intradérmicas e de desvio do complemento, usando antígenos preparados com as culturas do cogumelo.

Em relação à posição sistemática do gênero *Lutziomyces*, situamo-lo entre os *Protomycetes*, ao lado de *Coccidioides*. Fundamentamos nosso ponto de vista no estudo comparativo com as mucorineas que, numa série evolutiva, se pode dizer completa, apresentam a evolução dos esporângios, desde a forma típica de cavidades dentro das quais se diferenciam os endospórios (*Mucor*, *Rhizopus*, etc.) até as formas em que essa diferenciação se faz externamente na superfície da dilatação do esporóforo, sob a forma de esporangíolos unisporulados (*Cunninghamella*). O primeiro caso é análogo ao de *Coccidioides*, enquanto o segundo o é ao de *Lutziomyces*, com a guarnição externa de criptospórios que equivalem a ascocarpos unisporulados. Naturalmente essa analogia só pode ser reconhecida por quem não se limite ao estudo dos micetos parasitos do Homem e de animais superiores e conheça o conjunto da micologia. Isso explica a perplexidade de MORRIS MOORE diante da nossa interpretação que ele confessa não ter conseguido compreender.

Hoje é vastíssima a literatura sobre a micose de Lutz e esses primeiros passos que se deram para seu conhecimento estão quase completamente esquecidos ou são passados em silêncio. Enormes progressos se fizeram nos últimos decênios, em particular no que se refere ao tratamento da doença. A introdução por DOMINGOS OLIVEIRA RIBEIRO do emprego das sulfas e, depois, a de um produto de mais difícil e delicado manejo, a Anfotericina B, transformaram por completo o prognóstico da doença de Lutz que dantes era sempre fatal. E, felizmente, isso veio a fazer com que os estudiosos do assunto não mais tivessem que acompanhar os seus pacientes até a mesa de necrópsia e, na maioria dos casos, perdessem a oportunidade de mais aprofundar o estudo anátomo-patológico da doença.

(*) No seu excelente livro *Le granulomatose fungine dell'Uomo nelle regioni tropicali e subtropicale*, que constitui o volume V do grande *Trattato di Micopatologia Umana*, dirigido pelo Prof. GINO POLLACCI, dizem P. REDAELLI e R. CIFERRI:

"Le più antiche osservazioni avevano suggerito ali Autori una distinzione in due tipi principali di lesioni che permettevano la differenziazione di

"1) una forma linfatico-tegumentaria;

2) una forma linfatico-viscerale o interna.

"Ma fu successivamente constatato che questi aspetti non eran o non potevano essere che manifestazioni successive, tappe della stessa malattia".

O PROBLEMA DAS MICOSES ESPOROTRICÓIDES

Vários trabalhos do antigo Laboratório, depois Secção de Micologia de Manguinhos, versaram micoses esporotricóides produzidas por *Hemispora stellata* VUILLEMIN (?=*Sporendonema epizoum* CORDA =*Torula epizoa* CORDA), *Acladium* (*Aleurisma*) *Castellanii* PINOY e *Hormodendrum Langeronii* FONSECA, ARÊA-LEÃO e PENIDO (?=*Cladosporium sphaerospermum* PENZIG, *apud* DE VRIES, 1952).

Sobre a realidade do parasitismo desses e de outros micetos e seu papel na produção das lesões de que foram isolados, repetidamente têm sido expressas dúvidas, a ponto de em livros recentes sobre micologia médica se terem suprimido as referências a vários deles. No entanto dois argumentos falam em favor de sua acção patogênica. Um é o facto de terem sido eles isolados de lesões fechadas, nódulos e gomas subcutâneas. O outro reside na circunstância de às vezes serem directamente observados nas lesões, o que aconteceu, por exemplo, em casos da doença que STRONG e SHATTUCK descreveram da Libéria e do Congo ex-belga, sob a denominação de *potato-foot*, casos nos quais o parasito isolado era visto *in situ* nas lesões, sob a forma de hifas de cor castanha. Tratava-se de um *Hormodendrum* (? = *Cladosporium*).

É bem conhecida a ubiquidade dos *Hormodendrum* que são contaminantes comuns das culturas no laboratório. Não menos ubíquos, porém, são os esporotricos, que também raramente são observados directamente nas lesões nos casos de infecção natural do Homem, isso não impedindo que seja por todos reconhecida a sua acção patogênica, diuturnamente comprovada no laboratório e na clínica. Também nenhum especialista de micologia médica ignora que os *Phialophora*, primeiro descritos como agentes de cromoblastomicose, foram depois encontrados na natureza já então representados por diversas espécies, em madeiras apodrecidas e no solo. Aqui mesmo no Brasil, temos isolado como contaminantes formas de *Fonsecaea* (=*Hormodendrum*=*Acrotheca*) *Pedrosoi*, a princípio só conhecido como agente de cromoblastomicose.

É bem sabido também que o *Debaryomyces neoformans* (= *Torula histolytica*), agente etiológico do que impropriamente se vem chamando criptococose ou torulose, foi encontrado pela primeira vez por SANFELICE, que o descobriu e demonstrou sua acção patogênica, não em lesões produzidas por qualquer doença do Homem ou de outros animais, mas isolado de frutas em fermentação.

Foi no trabalho que, com ARÊA-LEÃO e JOÃO CARLOS NOGUEIRA PENIDO publicamos, que se basearam os ilustres tropicalistas e professores de Harvard, RICHARD P. STRONG e GEORGE C. SHATTUCK, quando estudaram a micose por *Hormodendrum* que observaram em sua conhecida expedição à Africa. O nosso trabalho foi então considerado pelos dois autores americanos como "the most complete study of the genus that has been carried out".

Há muito que se discute quais sejam as relações entre os gêneros *Cladosporium* e *Hormodendrum* e não só destes entre si como deles com *Dematium*, *Pullularia* e outros, cuja delimitação é difícil e muitas vezes impossível, porque sempre artificial. Agora se tem voltado a insistir na identidade daqueles dois primeiros gêneros, esquecendo que a querela é já pelo menos centenária. Também se tem querido identificar, empresa difícil e cheia de escolhos, as espécies novas que se descrevem com as velhas assinaladas nas obras clássicas da micologia. Assim é que, em 1952, DE VRIES considerou a espécie que, com ARÊA-LEÃO e NOGUEIRA PENIDO, descrevemos sob o nome de *Hormodendrum Langeronii*, como sinônimo de *Cladosporium sphaerospermum*. É possível que a verdade esteja com esse autor, mas é uma verdade ainda a demonstrar, e a demonstração só pode vir com uma revisão completa dos dois gêneros em causa e das respectivas espécies, tarefa se não ciclópica, pelo menos desmesurada.

A publicação que fizemos com ARÊA-LEÃO, sobre a *Hemispora stellata* VUILLEMIN, isolada de um caso de dermatose observado por JESUINO MACIEL, em São Paulo, veio confirmar o que escrevera sobre esse miceto o ilustre micólogo de Nancy, Prof. PAUL VUILLEMIN. Este mestre da micologia escreveu-nos: "Vous avez parfaitement observé les caractères essentiels de l'*Hemispora stellata*, trop négligés par les auteurs qui incriminent sans preuve cette espèce", repetindo a afirmação em seu livro *Les Champignons parasites et les mycoses de l'Homme*. De acordo se manifestou também MAURICE LANGERON, na análise que do nosso trabalho publicou no *Bulletin de l'Institut Pasteur*. Os autores italianos, porém, em particular REDAELLI e CIFERRI, nada contestando do que escrevemos, consideram que *Hemispora stellata* VUILLEMIN é sinônimo de *Sporendonema epizoum* (*Torula epizoa*), descrito por CORDA em 1839.

A TINHA IMBRICADA NO CONTINENTE AMERICANO E SEU SIGNIFICADO ETNOLÓGICO

Até o fim do primeiro quartel deste século as endodermofíceas que constituem a tinha imbricada, conhecidas dos tropicalistas pela designação de "toquelau", do nome de uma das ilhas onde foi introduzida em meados do século XIX, só se haviam identificado na área clássica de sua distribuição nas ilhas da Oceania e no sudeste asiático. Dado o aspecto característico e espectacular das lesões cutâneas que produz, a doença fora aí reconhecida desde o século XVIII, por navegadores, naturalistas e médicos que visitaram aquelas paragens. Justamente por ser assim fácil de reconhecer e logo chamar atenção, é que muitos autores procuraram descobri-la em diferentes regiões do Globo, alguns deles menos avisados tendo julgado encontrá-la onde ela nunca existira. Em consequência, surgiram notícias falsas de sua ocorrência na África do Sul. No Brasil, CARAMURU PAES LEME (1903) e ULYSSES PARANHOS e CARAMURU PAES LEME (1904), confundindo a doença com o pênfigo foliáceo (o "fogo selvagem", na denominação popular), erroneamente a assinalaram entre indígenas do rio Araguaia e neo-brasilianos na região do Planalto Central. O erro desses dois autores ressurgiu nos últimos anos nos trabalhos de ARÊA-LEÃO e de MASAO GOTO (1950) e de ARÊA-LEÃO (1953) sobre a tinha imbricada.

Na verdade e fora de qualquer possível contestação, os casos de tinha imbricada no Brasil só se vieram a observar muito mais tarde e até agora estão restritos a índios em vida tribal e, possivelmente, a sertanistas e outros viajantes que com eles tenham tido íntimos contactos, no centro-oeste e no extremo-oeste do país.

Em 1912, ROQUETTE-PINTO, visitando os índios Nambicuara do chapadão impropriamente denominado Serra do Norte, assinalou a existência entre eles de uma dermatose que pormenorizadamente descreveu e que era por aqueles indígenas denominada "baanacedutu". Sem firmar diagnóstico clínico, pois vários aspectos da enfermidade se afastavam do que era descrito no toquelau, ROQUETTE-PINTO percebeu as afinidades entre as duas doenças. Estando ainda os Nambicuara naquela época muito esquivos e ariscos, não pôde aquele pesquisador colher material para estudo parasitológico da doença. Não chegou, portanto, ROQUETTE-PINTO a fazer diagnóstico de toquelau no caso da dermatose dos Nambicuara. Tal estudo, aliás, até hoje não foi realizado, tudo, porém, levando a crer que a dermatose daqueles índios seja realmente a tinha imbricada.

Somente em 1924 a nós foi dado comprovar e cientificamente demonstrar a existência de uma endodermofícea no Continente americano, ao estudarmos uma dermatose endêmica entre os índios Puruborá que vivem junto às cabeceiras do rio São Miguel, afluente da margem direita do Guaporé, próximo à fronteira entre o Brasil e a Bolívia. A doença era denominada por aqueles indígenas "chimberê".

Pudemos estudar essa dermatose, não só clínica como parasitologicamente, isolando das escamas da pele um cogumelo que, como acontece nos casos da doença observada na Oceania e no Sudeste asiático, era um típico *Endodermophyton* (= *Trichophyton, pro parte, Auctorum*), ao qual demos o nome de *Endodermophyton Roquettei*, em homenagem ao ilustre médico, antropólogo e etnólogo brasileiro ROQUETTE-PINTO, que estudara a dermatose similar (talvez idêntica, até hoje não se sabe) dos Nambicuara.

Mais tarde, na qualidade de enviado da Comissão de Higiene da antiga Liga das Nações, tivemos oportunidade de fazer demorada estada no Japão e de visitar o sul da China, a Indochina, a Malásia e Ceilão, lá percorrendo os clássicos focos de tinha imbricada, particularmente em Amoy, onde por longo tempo trabalhou PATRICK MANSON, em Saigon, onde JEANSELME realizou suas pesquisas de dermatologia tropical, em Cingapura e em Ceilão, que foi o centro de estudos de ALDO CASTELLANI. Percorrendo o interior de Formosa, chegamos às montanhas para onde foram recalcados os indígenas de origem malaia e indonésica, entre os quais é endêmica e frequente a tinha imbricada, doença que é muito mais rara entre os chins e japoneses da população litorânea ocupante e invasora.

Desde nossos primeiros estudos sobre a tinha imbricada, nos preocupamos com as implicações de ordem antropológica e etnológica, resultantes da verificação da presença da doença e do respectivo agente produtor em duas áreas geográficas bem delimitadas e separadas por barreiras naturais que só ao Homem era dado transpor, e com exclusão de quaisquer outras regiões do Globo. Como não podia deixar de ser, chegamos logo a conclusão de que a doença e o parasito que a produz só poderiam ter chegado à América com migrações pre-colombianas de indígenas da Oceania que em parte vieram a constituir, com as migradas através do Estreito de Bering, as primeiras populações do Novo Continente: melanésios, micronésios, polinésios que, grandes navegadores, sobre-

tudo estes últimos, depois de terem descoberto e povoado as miríades de ilhas da Oceania chegaram à América por mar, aqui penetrando pela costa do Pacífico.

No caso da demonstração da existência de tinha imbricada no Continente americano, evidentemente se não tratava de grande descoberta, mas de uma simples verificação de factos já conhecidos em outras regiões do Globo, mas de uma verificação capaz de conduzir a conclusões de maior interesse geral. Apesar de, como acabamos de dizer, não passar essa demonstração de uma verificação, neste continente, de factos já conhecidos em outras regiões do Globo, não deixou ela de ser tratada segundo aquela fórmula bem conhecida, a que se referiu ALEXANDRE DE HUMBOLDT a propósito das grandes descobertas: a princípio duvida-se da sua veracidade, depois nega-se sua importância e, por fim, atribui-se-as a um outro autor. A nossa modestíssima comprovação da presença da tinha imbricada em terras da América foi tratada como se fosse uma grande descoberta.

A primeira reacção, ao apresentarmos oralmente o nosso trabalho, em sessão da Sociedade Brasileira de Biologia, partiu do ilustre tropicalista ADOLPHO LUTZ, a quem custava crer lhe tivesse passado despercebida, em mais de trinta anos de experiência, uma doença de tal modo característica. Declarou ele francamente não acreditar que se tratasse nos nossos casos de tinha imbricada, mas, sim, provavelmente de alguma forma menos comum de *pityriasis versicolor*. Respondemos a LUTZ, dizendo que estávamos certo de poder trazer à próxima sessão da Sociedade as culturas do *Endodermophyton*, que contávamos isolar dos índios examinados, os quais não tinham sido vistos por LUTZ, que raríssimas vezes se defrontara com os nossos indígenas. Podíamos estar certo do que dizíamos, não só pelo aspecto clínico inconfundível das lesões, como pelo resultado do exame microscópico das escamas de pele que revelavam a presença de um cogumelo qua nada tinha de semelhante com as *Malassezia* da *pityriasis versicolor*. E, de facto, na sessão seguinte, pudemos apresentar as prometidas culturas de *Endodermophyton*, perfeitamente típicas. E vimos então o nosso grande mestre, numa de suas atitudes sempre dignas, render-se à evidência e, nos dando plena razão, mostrar-se convencido da veracidade do que afirmávamos.

Mais tarde se veio a negar a importância que tinham nossas verificações e dizer-se que se tratava de infecção adquirida do solo (opinião emitida por FIGUEIROA e CONANT) e que tínhamos "aventurado" (o termo foi de GONZALEZ-OCHOA) a explicação da existência da doença na América pelas migrações pre-históricas de indígenas da Oceania. E, por fim, entre nós houve quem ainda recentemente atribuisse a demonstração da presença da tinha imbricada entre indígenas americanos, não a nós, mas, ora a PARANHOS e LEME (o que foi afirmado por ARÊA-LEÃO e MASAO GOTO), que descreveram como sendo de toquelau apenas casos de pênfigo foliáceo comum no interior do Brasil, ora ao nosso eminente amigo ROQUETTE-PINTO que nunca fez tal diagnóstico e que tão grande interesse demonstrou pelos nossos trabalhos que passou a reproduzir o mais completo deles, como anexo, às novas edições, a partir da 3.ª, de seu clássico livro sobre a "Rondônia". Isto sem falar na atribuição dessa demonstração, que só um especialista poderia dar, ao distinto sertanista, Engenheiro BENJAMIN RONDON.

Mas tal gênero de contraditas, umas francas, sinceras e de boa-fé como a de ADOLPHO LUTZ, outras motivadas pelo desconhecimento do assunto ou, ainda, por sentimentos menos elevados, não impedem nunca que o tempo faça surgir a verdade.

Hoje se sabe que a tinha imbricada se encontra espalhada em vasta área do Continente americano, mas distribuída em áreas bem delimitadas de endemia: os Estados de Puebla e de Tlaxcala, no México; a Guatemala; o Centro-Oeste e o Extremo-Oeste do Brasil; e, possivelmente, outros países da América (Colômbia, El Salvador). Já agora também, vários autores (JULIO E. GOMEZ CH., LIBERO AJELLO) admitem a importação da doença para a América pelas migrações pre-colombianas de indígenas da Oceania, tese que avançamos desde 1925 e que continuamos a defender.

O corolário dessa tese é ainda de maior interesse científico e muito importa para a solução dum dos problemas básicos da etnologia, o das origens do Homem americano. De facto, a introdução na América de uma doença só existente na Oceania e no sudeste asiático, sem que dela tivessem restado vestígios no nordeste da Ásia e no norte e noroeste da América, conduz inevitavelmente à conclusão de que nem todos os indígenas americanos são oriundos das migrações que tiveram lugar através do actual estreito e antigo istmo de Bering. Aliás, foi a essa conclusão que ulteriormente chegou FRED L. SOPER, quando comprovou, em uma tribo isolada do Chaco paraguaio, a predominância das infestações por *Ancylostoma duodenale* em relação às por *Necator americanus*. Também estudos nossos ulteriores a que faremos menção a seguir, sobre a piedra negra ou ascospórica, levaram à mesma conclusão.

Outros pontos controvertidos de nossos trabalhos sobre as endodermofíceas, dizem respeito aos aspec-

tos micológicos da questão e versam pontos de vista em grande parte pessoais, sobre o modo de separar gêneros e de estabelecer espécies no grupo de dermatófitos a que pertencem os agentes produtores da tinha imbricada: se devem eles ser reunidos em um gênero à parte, *Endodermophyton*, ou se devem ser incluídos no vasto e heterogêneo gênero *Trichophyton*; se constituem eles uma única espécie (*Endodermophyton concentricum*) como querem muitos autores, ou, ao contrário, se devem entre êles ser reconhecidas várias espécies (*E. concentricum, E. Mansoni, E. tropicale, E. indicum* e, também, *E. Roquettei*). Discutimos a fundo essas questões que envolvem o próprio conceito de "espécie" e o dos critérios para a sistemática dos dermatófitos, em uma monografia publicada sob o título de "Parasitismo e migrações humanas pre-históricas", primeiro publicada em 1970 em *Pre-história brasileira*, pelo Instituto de Pre-história da Universidade de São Paulo, então dirigido pelo Prof. PAULO DUARTE, e aparecendo em segunda edição em 1972, juntamente com as publicações da AMELPO (Associação Médica de Língua Portuguesa).

A PIEDRA ASCOSPÓRICA

Três ordens de trabalhos sobre a piedra negra, que hoje preferimos qualificar de "ascospórica", foram realizadas em Manguinhos.

Em primeiro lugar está o trabalho, hoje clássico, de PAULO PARREIRAS HORTA, primeira descrição minuciosa do parasito nos nódulos peripilares e do aspecto macroscópico das respectivas colônias em meio artificial de cultura. HORTA descreveu as formações, já entrevistas por DESENNE em 1878 e por este consideradas parecerem "tecas", isto é, ascos. Essas formações, em que estão contidos os espórios do cogumelo, HORTA os chamou "quistos". Baseando-se nesse trabalho, BRUMPT criou a espécie *Trichosporon Hortai*.

Até então, e ainda por vários anos, todos os cogumelos produtores de piedra eram reunidos num mesmo gênero, *Trichosporon* BEHREND. Reestudando o assunto, em colaboração com ARÊA-LEÃO, verificamos que os supostos "quistos" de HORTA eram na verdade ascos, providos habitualmente de oito, mas, às vezes, de apenas quatro ou menor número de ascospórios, e que tais ascos se formavam também nas culturas velhas do parasito em alguns meios naturais de cultura. Essas verificações modificaram por completo a posição sistemática atribuída ao parasito da piedra negra, para o qual, com ARÊA-LEÃO, estabelecemos então um novo gênero de ascomicetos, *Piedraia*, que logo foi aceito por todos os especialistas, passando o agente da piedra negra a chamar-se *Piedraia Hortai*. Ficou então pela primeira vez demonstrado que: a) o cogumelo da piedra negra era um ascomiceto; b) que os ascos desse cogumelo se formam não só nos nódulos peripilares como nas culturas do parasito; c) que as piedras constituem afecções pilares de dois tipos inteiramente diversos, de um lado as produzidas pelos deuteromicetos ou cogumelos imperfeitos do gênero *Trichosporon*, e de outro as produzidas pelos ascomicetos do gênero *Piedraia*.

Mais tarde, nós pessoalmente abordamos o estudo da distribuição geográfica e etnológica dos parasitos do gênero *Piedraia* e da forma de piedra por eles produzida, a qual passamos a denominar piedra ascospórica. Revendo a literatura sobre o assunto, verificamos que a piedra ascospórica era assinalada em duas áreas geográficas: a América tropical e subtropical (raríssimos casos nos Estados Unidos da América) e a península indochinesa e algumas ilhas da Indonésia (Bornéo, Java, Sumatra). Resolvemos então investigar mais profundamente o assunto e, no Museu do Homem, em Paris, fomos estudar as múmias pre-colombianas e a valiosíssima colecção de cabelos lá existente, proveniente de todas as regiões do Globo e de toda sorte de populações ou raças. Assim, conseguimos encontrar nos cabelos colhidos, há quase um século atrás, pelo famoso médico e explorador JULES NICOLAS CREVAUX, de índios de diferentes famílias linguísticas sul-americanas, nódulos de piedra ascospórica. Mostramos também que, em língua tupi, como no nheengatu falado pelas populações neo-brasilianas e pelos indígenas aculturados da Amazônia, existe um termo, *quirana*, que passou para o português falado naquela região, para designar a piedra ascospórica. Essas verificações e o estudo pormenorizado da epidemiologia da afecção, nos levaram à convicção de que a piedra ascospórica é autóctone entre os nossos indígenas e representa o resultado de uma importação pre-colombiana por imigrantes vindos do sudeste da Ásia e da Oceania. Ficou assim demonstrado que, se sob ponto de vista médico a piedra ascospórica tem importância mínima, ao contrário tem ela um alto significado etnológico e pre-histórico. O assunto foi por nós estudado em todas as suas minúcias na monografia intitulada "Parasitismo e migrações humanas pre-históricas", publicada em 1970 em *Pre-história brasileira*, pelo Instituto de Pre-história da Universidade de São Paulo e da qual uma 2.ª edição foi lançada juntamente com os trabalhos do V Congresso da Associação Médica de Língua Portuguesa (AMELPO).

BLASTOMICOSES BENIGNAS

Em 1931, o Prof. JORGE LOBO, em Recife, Pernambuco, teve ocasião de observar um caso de granulomatose blastomicóide que não apresentava os aspectos clínicos bem conhecidos da doença de Lutz, a "blastomicose" sul-americana comum do Brasil. O paciente, cuja doença tivera início havia muitos anos, quando trabalhava nos seringais da Amazônia, foi objecto no Recife de demorados estudos do Prof. JORGE LOBO, que nos fragmentos retirados por biópsia encontrara um cogumelo semelhante ao agente produtor da doença de Lutz. Em companhia daquele ilustrado professor e do Dr. A. E. DE ARÊA-LEÃO, tivemos repetidas oportunidades de examinar o paciente e de estudar-lhe a dermatose e o respectivo parasito. Em sucessivas publicações, a partir de 1933, o Prof. JORGE LOBO esclareceu os aspectos clínicos e histo-patológicos da nova entidade mórbida, a que demos o nome de "doença de Lobo". Encarregamo-nos do estudo do parasito, utilizando uma técnica muito empregada pelos fitopatologistas e que na oportunidade descrevemos, semeando, como sempre fazemos quando na expectativa de encontrar algo de novo, dezenas de tubos de cultura, conseguimos isolar o fungo responsável que classificamos como uma nova espécie de *Glenosporella*, e que descrevemos sob o nome de *Glenosporella Loboi*. Por essa classificação e esse nome, somos nós pessoalmente o único responsável, embora a publicação a respeito tenha sido feita em nosso nome e no de ARÊA-LEÃO como estávamos na época habituados a fazer. Insistimos no facto porque, passados alguns anos, ARÊA-LEÃO em colaboração com MASAO GOTO, deu uma descrição inteiramente diversa do parasito, identificando-o como agente produtor da doença de Lutz. É evidente, e os trabalhos de outros autores que depois versaram o assunto amplamente o comprovam, que ARÊA-LEÃO e GOTO não utilizaram em seus estudos o agente etiológico da doença de Lobo, mas, sim, por uma troca de culturas ocorrida no laboratório, empregaram para suas experiências de inoculação uma amostra do parasito da nossa "blastomicose" comum, a doença de Lutz.

Muito se tem escrito nos últimos anos sobre a doença de Lobo, de que algumas dezenas de casos já estão registados na literatura, quase todos, com pouquíssimas excepções, provenientes da região amazônica. Nunca mais tivemos oportunidade de voltar a estudar o assunto que bem está precisando ser revisto para que se explique a dificuldade que têm encontrado os autores em cultivar o parasito.

Outro tipo de "blastomicose" benigna descrevemo-lo também da região amazônica, em que o agente etiológico em vez de ser uma mucedínea dificilmente cultivável como é a *Glenosporella Loboi*, é uma demaciácea de mais fácil cultivo, para a qual estabelecemos um novo gênero e uma nova espécie, chamando-a *Glenosporopsis amazonica*.

Sobre a "blastomicose" ou as "blastomicoses" que ocorrem entre os índios da região do Xingu, de que alguns pacientes foram internados no Hospital Evandro Chagas em Manguinhos e estudados por ARÊA-LEÃO e por PEREIRA FILHO, não se chegou a conclusões definitivas.

OUTROS TRABALHOS SOBRE MICOLOGIA

No antigo Laboratório, depois Secção de Micologia, outras pesquisas se realizaram, algumas das quais ficaram inéditas ou porque não se tivessem obtido resultados seguros ou porque se as não tivesse completado ou, simplesmente, por não parecerem suficientemente relevantes para merecerem publicação. Isso, aliás, acontece em todos os centros de investigação científica original. Das que foram publicadas e que ainda não mencionamos, citaremos aqui algumas.

Os estudos sobre a tinha negra palmar, produzida pelo *Cladosporium Wernecki*, a cujo conhecimento trouxemos apenas ligeiros pormenores, foram objecto de uma publicação nossa em colaboração com o Dr. AMILCAR FERREIRA DA ROSA.

Os micetomas por *Scedosporium apiospermum*, que já haviam sido observados no Brasil por PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES, foram estudados por ARÊA-LEÃO e por nós e a seu conhecimento trouxemos apenas contribuição de menor vulto. Um caso ocorrido no Paraguai foi estudado pelo Dr. RAUL PEÑA, o mesmo que depois veio a ser embaixador de seu país no Rio de Janeiro, e que, durante dois anos, estagiou em nosso laboratório de Manguinhos.

De um caso de micetoma ocorrido no serviço clínico do Prof. ALCINDO BAENA, isolamos o *Aspergillus amstelodami*, primeira observação desse miceto como produtor de tal tipo de doença. A respeito, em correspondência particular e no seu

livro sobre *Les champignons parasites et les mycoses de l'Homme*, o professor PAUL VUILLEMIN se estendeu em comentários, um dos quais foi de que: "Sans être imprévue, votre decouverte est nouvelle et d'autant plus significative que les Aspergillacées signalées jusqu'ici dans les mycétomes suscitaient des doutes".

Pelos anos de 20, no princípio deste século, muito se falou e escreveu sobre esplenomegalias micósicas que se teriam observado na África e na Europa, sobre a natureza micósica dos grânulos esplênicos de SYMMERS e GAMNA e sobre a existência de um micetoma do baço. Naturalmente, o assunto interessou aos micologistas e patologistas de Manguinhos, a OSWINO PENNA que nos consultou a respeito, a ARÊA-LEÃO e a nós. Com ARÊA-LEÃO, fomos procurar, no material de necrópsias conservado nas colecções anátomo-patológicas do Instituto, os casos em que tivesse sido registada a ocorrência daqueles nódulos. Nossos estudos levaram à conclusão de se tratar, nos casos brasileiros em que aspectos pseudo-micelianos se encontravam, de depósitos minerais e de elementos degenerados do órgão. Assim, confirmamos, de um lado as impressões de OSWINO PENNA, e de outro o que já anteriormente tinham escrito LANGERON e GAMNA.

Nossos trabalhos, feitos em colaboração com ARÊA-LEÃO, sobre as manifestações alérgicas nas dermatomicoses e sobre a vacinoterapia nessas doenças, mereceram de uma grande autoridade, MARION B. SULZBERGER, de Nova York, os qualificativos de "fruitful research" e de "stimulating contributions". É que, de um lado sistematizamos os quadros clínicos das mícides ou micétides e de outro prosseguimos no caminho aberto por JAUSION e SOHIER com a introdução das claso-vacinas preparadas com o micélio dos dermatófitos quimicamente desintegrado. Como os autores franceses, obtivemos bons resultados no tratamento das tinhas do couro cabeludo produzidas por micrósporos e tricófitos, podendo assim evitar os azares da radioterapia, que, além da acção cumulativa das radiações, em mãos menos experientes pode provocar os desastres irreparáveis (excepto pela transplantação dos cabelos) de uma alopécia definitiva.

Em certas circunstâncias, mesmo entre mãos experientes, o mesmo pode acontecer, como infelizmente nos foi dado observar tanto no Rio de Janeiro como em Paris. Na Escola Lailler, anexa ao Hospital Saint-Louis, onde se internavam crianças com tinha do couro cabeludo, numa ocasião, por engano, uma enfermeira fez passar duas vezes pelos raios X, em lugar de uma única vez como manda a técnica, a mesma turma de pequenos pacientes, que assim receberam o dobro da dose tolerável de radiação. No Rio de Janeiro, por ocasião de uma epidemia de tinha tonsurante que estudamos com o Dr. A. SIMÃO LEVY, o tratamento de parte das crianças infectadas foi entregue a um competentíssimo radiologista, habituado a manejar os raios X para fins de diagnóstico, mas não para terapia. O resultado, mais do que lamentável, nesses dois casos, foi a alopécia definitiva, em grande placas nuns casos, total em outros, de muitas das crianças tratadas. Esses acidentes e outras dificuldades surgidas para o tratamento das tinhas tonsurantes, antes do emprego do ácido undecilênico e da introdução dos antibióticos no tratamento das dermatomicoses, mostram o interesse que então havia no emprego das claso-vacinas.

Em relação à granulomatose coccidioídica, trouxemos em tempo duas contribuições sobre as quais até hoje não é unânime a opinião dos diferentes autores.

Uma diz respeito à posição sistemática do *Coccidioides immitis*, assunto muito controvertido e sobre o qual têm sido emitidas mui diversas opiniões. A respeito, em 1942, REDAELLI e CIFERRI em seu livro sobre as granulomatoses micósicas, já várias vezes aqui citado, escreveram:

"É noto come i primi studiosi pensavano ad una posizione dell' agente della granulomatosi di Posadas tra i protozoi, dopo la coltura del parasita e la sua dimostrazione trattarsi di un micete, ben pochi azzardarono la soluzione del problema e solo si può intravvedere qualche idea sulla basi dei generi ai quali il fungo vene assegnate... si é preferito passare sotto silenzio il dato e non affrontare il grave problema delle affinità di *Coccidioides*, anche perche le conoscenze intorno al ciclo del fungo erano molto incomplete". M. LANGERON (1922) tinha aproximado o gênero *Coccidioides* dos Ficomicetos da ordem *Chytridiales*, mas, como assinalam REDAELLI e CIFERRI, "como pura ipotesi non appoggiata de alcuna prova". Antes de quaisquer outros, nós os colocamos ao lado dos *Protomycetes*, parasitos de plantas, o que logo recebeu o apoio de PINOY, o conceituado micólogo do Instituto Pasteur, que escreveu: "En raison de ses kystes et de sa reproduction par endospores, je le rapprocherais volontiers des *Protomyces* comme le fait da Fonseca". Também REDAELLI (1930) em seus estudos sobre a citologia de *Coccidioides immitis*, chegou à mesma conclusão, embora mais tarde ele e CIFERRI, fossem levados a admitir que *Coccidioides* mais se aproximava das *Chytridiales* da família das Olpidiáceas. Como desde 1927 propuséramos, em 1943 BAKER, MRAK e SMITH consideram *Coccidioides* entre os Protomicetos.

A outra questão que tratamos, relacionada com o agente produtor da granulomatose coccidioídica foi a relativa ao caso com este diagnóstico estu-

dado na República Argentina, em 1928, por MAZZA e PARODI. Revendo os preparados desses dois autores (uma vez que o parasito não fora cultivado), encontramos um modo de formação, até então não descrito, dos espórios endógenos do cogumelo. Na ocorrência desse processo de esporulação, cuja existência não fora até então registada para o *Coccidioides immitis*, baseamos o novo gênero *Pseudococcidoides*, tendo como espécie-tipo P. MAZZAI. Em 1932, FLORIANO DE ALMEIDA, sempre atento ao que publicávamos, o que muito nos lisonjeava, reestudando esse material, chegou à conclusão de que não tinha razão de ser a distinção entre *Coccidioides* e *Pseudococcidioides* e que este último gênero não era mais do que um sinônimo do primeiro. Não tivemos tempo nem oportunidade de voltar ao assunto e não sabemos se jamais o teremos. Mas, por isso mesmo, sem maior exame, o ponto de vista de FLORIANO DE ALMEIDA passou a ser aceito pela generalidade dos autores. Mas, a nós parece que a orientação correcta a respeito é a indicada por CARROL WILLIAM DODGE em seu grande tratado *Medical Mycology*. Diz o professor de Saint Louis:

"... Fonseca noted that in spore formation, the ascospore nuclei migrated to the peripheral layer of the protoplasm as they do in the Protomycetaceae (Fig. 23) and are separated by radial cleavage planes (Fig. 23, 3,4) followed by periclinal planes until two or three layers of protospores are produced (Fig. 23, 5,6). The protospores then form groups of 2-16 spores, which finally expand and fill the whole central vacuole as they increase in size. Almeida (1932) working with a strain from Omaha, Nebraska, D. Spring 1901, found a similar condition in the host tissues. Whether this condition exists in all North American Strains of *Coccidioides* and has been overlooked by North American workers or whether it constitutes a real difference between the North and South American species is still an unsolved problem. Unfortunately apparently none of the Argentine organisms has been cultivated so that we can compare cultural characters".

Essa apreciação de DODGE deixa bem claro que das duas uma: ou, ao descrevermos um novo modo de formação dos endospórios no parasito de MAZZA e PARODI estávamos assinalando em *Coccidioides* um facto que tinha até então passado despercebido aos autores americanos, ou o que observáramos era uma característica que se não encontra em todos os parasitos da chamada granulomatose coccidióidica e, então, o gênero *Pseudococcidioides* que criamos é realmente distinto do parasito comum da doença nos Estados Unidos. De qualquer modo uma contribuição nova foi trazida ao conhecimento do assunto.

Ainda sobre micologia, é de mencionar-se o trabalho de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO (1922) sobre os *Blastocystis*, cogumelos parasitos do intestino do Homem e de muitos outros animais vertebrados e invertebrados. Nesses cogumelos, cuja morfologia lembra a dos *Coccidioides* (nós os colocamos, ambos, entre os Protomicetos), ARAGÃO descreveu o processo de endosporulação, que coexiste com o de divisão binária do parasito.

Os estudos de ARAGÃO sobre o *Blastocystis* foram realizados com material colhido de anfíbios.

Um parasito do mesmo grupo, reproduzindo-se por endosporulação, foi por nós encontrado no intestino de um rato selvagem, capturado em Vassouras, Estado do Rio de Janeiro. Essa espécie está ainda em estudo e todavia não sabemos se se pode enquadrar entre os *Blastocystis*.

ARÊA-LEÃO e MASAO GOTO, a partir de fotografias e de escamas colhidas por NOEL NUTELS e por ERNÂNI MARTINS DA SILVA, assinalaram a tinha imbricada entre os índios Uaurá, da região do Xingu, e ARÊA-LEÃO reestudou a questão da incidência espontânea de dermatófitos no cobaio.

AMADEU CURY, só e em colaboração com NICKERSON, investigou a acção de factores de crescimento e de microelementos sobre alguns micetos patogênicos.

No actual Laboratório de Micologia, três pesquisadoras têm o encargo da manutenção da valiosa colecção de culturas e das investigações em andamento. São elas MARIA CARLOTA PEDROSO, professora de Micologia na Universidade Federal Fluminense, PEDRINA CUNHA DE OLIVEIRA especializada em genética de fungos na Universidade de Sheffield, na Inglaterra, onde fez o seu mestrado em ciências, sob a orientação do reputado geneticista JOSEPH ALLAN ROPER. São várias e importantes as contribuições de PEDRINA CUNHA DE OLIVEIRA para o conhecimento de novos mutantes de aspergilos, alterações da estrutura cromossomial pelas radiações ultra-violete nesses micetos e sobre a heterocariose em *Aspergillus nidulans*, assunto de sua tese inaugural naquela universidade inglesa. LEONOR LAURA PINTO LEON, diplomada em química industrial, publicou trabalhos sobre nutrição e fisiologia de leveduras (*Candida albicans*, *C. Sloffi*, *Torulopsis Pintolopesii*), factores condicionantes nesse grupo de micetos, em particular das espécies psicrofóbicas e suas relações com os hospedeiros animais. MARIA CARLOTA PEDROSO tem publicado muitos trabalhos sobre as infecções por *Lutziomyces*, sobre cogumelos queratinófilos, sobre espécies de *Pullularia* e de *Cladosporium* e outros assuntos.

DIVERSÕES A PARTIR DA MICOLOGIA

A pesquisa de micetos em lesões da pele e outras, por vezes conduz a resultados inesperados. Foi o que aconteceu em Manguinhos por diversas vezes.

UMA FORMA PARTICULAR DE LARVA MIGRANS: A HABRONEMOSE CUTÂNEA

Logo depois de se iniciarem os trabalhos do Laboratório de Micologia, um problema não esclarecido em Manguinhos foi apresentado a MAGARINOS TORRES e a nós por alguns dos responsáveis pelo preparo de soros terapêuticos e profilácticos, então de largo emprego como os únicos recursos no tratamento ou na prevenção de várias doenças infectuosas: o da "esponja" dos equídeos, granuloma úlcero-vegetante das patas dos cavalos, que às vezes também ataca o Homem. Havia vários anos que a etiologia dessa doença era discutida entre nós e o assunto fora trazido à nossa atenção na suposição de que se tratasse de uma micose, hipótese que parecia justificar-se pelo facto de se encontrarem, nos cortes histológicos das lesões cutâneas, nódulos de pequenas dimensões que, a um exame superficial, lembravam grãos de micetoma. Dos estudos que realizamos, em colaboração com MAGARINOS TORRES e ARÊA-LEÃO, entretanto, chegamos à conclusão de que se não tratava de micose e, sim, de uma manifestação muito especial de parasitismo errático por larvas de nematódios do gênero *Habronema*. Os adultos desses helmintos se encontram no tubo digestivo dos equídeos e suas fêmeas aí deitam os ovos fecundados que, com as fezes dos animais infestados, são lançados no exterior. Pousando nessas fezes contaminadas e com elas se alimentando, as moscas (*Musca domestica* e provavelmente outras espécies) aspiram as larvas do nematódio que se vai evolvendo na tromba da mosca. Defendendo-se das moscas, os equídeos muitas vezes as ingerem e com elas também as larvas de *Habronema* que então se irão desenvolver em adultos no tubo digestivo do novo hospedador, fechando-se o ciclo evolutivo normal do parasito. Acontece, porém, que algumas vezes as moscas infestadas vêm a pousar em feridas traumáticas ou erosões cutâneas comuns nas patas dos cavalos, para aí se alimentarem dos exsudatos existentes. Então, muitas vezes, acontece que, da tromba da mosca passam à ferida cutânea do equídeo (ocasionalmente também do Homem) as larvas de *Habronema* que, em vão, procuram atravessar os tecidos para atingirem sua localização normal no tubo digestivo do hospedador. Sua presença determina então as lesões granulomatosas que constituem na pata do equídeo a massa tumoral que recebe o nome vulgar de "esponja". Em tudo isso, nossas pesquisas vieram confirmar o que FERRET, DUPUIS, MERCIER e DESCASEAUX tinham observado em relação à "esponja" brasileira e à *plaie d'été*, que é a doença similar encontrada na Europa. As larvas de *Habronema*, assim desviadas do curso normal de sua evolução acabam sempre por morrer, calcificar-se e se transformar cada qual no centro de uma lesão granulomatosa, que se organiza em torno desse corpo estranho. Estão assim constituídos os *grãos habronêmicos* que, com MAGARINOS TORRES e ARÊA-LEÃO, descrevemos como característicos da doença, e que, a um exame superficial, lembram grãos de micetoma.

Ficou, portanto, demonstrado que a "esponja" dos equídeos (que, como dissemos, ocasionalmente se observa também no Homem) é um caso especial do fenômeno bio- e nosológico que recebe a denominação geral de *larva migrans*.

Os estudos de MAGARINOS TORRES vieram a mostrar que a "esponja" dos nossos cavalos é produzida por larvas de *Habronema muscarum* (CARTER, 1861), cujos adultos se encontram no estômago dos equídeos, enquanto que na Europa já era sabido que a *plaie d'été* tem como agentes etiológicos as larvas de *Habronema megastoma* RUDOLPHI, 1819.

Este episódio revela como a investigação científica original é que muitas vezes conduz o pesquisador, em vez de ser por ele conduzida. No caso vertente da "esponja" dos equídeos, MAGARINOS TORRES, ARÊA-LEÃO e nós partimos à procura de uma micose e, encontrando em vez disso uma verminose, tivemos que enveredar pelo campo da helmintologia.

SARNA CROSTOSA

De outra feita, nos foi enviado para diagnóstico um paciente que apresentava lesões escamosas em quase toda a superfície da pele, no couro cabeludo e nas mãos passando a crostosas. As unhas estavam atacadas, em parte destruídas e em parte deformadas. O diagnóstico do clínico fora de uma

provável micose de natureza indeterminada. Mas, o estudo do doente e o exame microscópico das crostas, para surpresa nossa, revelaram a presença de abundantes exemplares do *Sarcoptes scabiei*, o ácaro produtor da sarna. Estava feito o diagnóstico — sarna crostosa ou norueguesa, primeiro caso dessa modalidade da sarcoptose observado no Rio de Janeiro e segundo registado no Brasil. Publicamos a respeito um trabalho em colaboração com o Dr. AMILCAR FERREIRA DA ROSA. O material de ácaros colhido foi, a pedido nosso, objecto de interessantíssima publicação de COSTA-LIMA.

BOTRIOMICOSE ESTAFILOCóCCICA

Em duas outras ocasiões, nos foram trazidas para confirmação de diagnóstico de micetoma, preparações anátomo-patológicas de ulcerações da pele em que se encontravam formações muito semelhantes a grãos actinomicósicos. Estudados esses dois casos, verificamos tratar-se de botriomicose estafilocócica.

OS ESTUDOS CLÍNICOS E O HOSPITAL DE MANGUINHOS

Nos planos iniciais de organização do Instituto, como não podia deixar de ser, OSWALDO CRUZ incluiu o hospital, cuja construção foi por ele iniciada. Mas, dada a crônica falta de verbas ou, talvez melhor, a falta de um planejamento dentro das verbas, os trabalhos de construção marchavam tão lentamente que, em 1913, quando ingressamos no Instituto pouco mais existia da edificação que os alicerces e uma estrutura, ainda não completada, das paredes, estando as obras paralisadas. Só em 1917, após a morte de OSWALDO CRUZ, foram retomados com intensidade os trabalhos e terminada a construção já na gestão do novo director, CARLOS CHAGAS. Esse atraso foi origem de sérios inconvenientes.

Como tudo o que então se fazia em Manguinhos, o hospital fora planejado para dispor do que de mais moderno e aperfeiçoado pudesse existir no momento. Entre as inovações, nesse primeiro decênio do século, o que a quase todos os que não acompanharam de perto os acontecimentos causará admiração e a outros talvez mesmo possa parecer inacreditável, estava a instalação de ar condicionado em toda a área das enfermarias, laboratórios, consultórios, quartos isolados e seus anexos. Em meio, porém, da construção, em 1914, rompe a primeira guerra mundial que se iria prolongar até fins de 1918.

A Europa de então era a única fonte onde se podiam adquirir produtos de uma indústria mais avançada. Nos Estados Unidos, para não falar no Japão ainda não muito industrializado, no Canadá que não passava de um domínio britânico e nos demais países, política, mas não econômica e industrialmente independentes, a fabricação de microscópios e outros aparelhos era, se pode dizer, rudimentar, não se produziam as anilinas, matéria-prima de quase todos os corantes dos nossos laboratórios, não havia indústria de vidros capaz de produzir as lamínulas para preparações microscópicas e, naturalmente, não se fabricava a aparelhagem para ar condicionado que mesmo na Europa era um requinte quase de todo desconhecido. E a aparelhagem encomendada na Alemanha por lá ficou se é que mesmo chegou a ser fabricada. O resultado foi desastroso. Edificado o hospital para ter ar condicionado, sem ele, as janelas estreitíssimas e outras particularidades de construção tornaram-se em irremediáveis defeitos que nunca foi possível corrigir.

Mas, do mesmo modo que uma catedral não basta para que haja uma religião (vejam-se os exemplos das que hoje persistem na Rússia) e do mesmo modo que uma escola não é simplesmente o edifício que a aloja, o hospital de Manguinhos, a que mais tarde foi dado o nome de Hospital Evandro Chagas, no velho ou no novo edifício que àquele se substituiu, tem uma história que não é apenas a da casa que por tanto tempo o abrigou. Essa história foi feita pelos homens que lá têm trabalhado: CARLOS CHAGAS, EURICO VILLELA, EVANDRO CHAGAS, SINVAL LINS, GENARD NOBREGA, todos eles grandes clínicos, forrados de excelentes experimentadores.

A doença de Chagas foi sem dúvida, como era, aliás, natural, sempre o tema predilecto de trabalho. Investigaram-na sob todos os seus aspectos CARLOS CHAGAS, EURICO VILLELA, GENARD NOBREGA,

EVANDRO CHAGAS, FRANCISCO DA SILVA LARANJA, sobretudo naquilo que constitui hoje um capítulo especial de cardiologia, a cardiopatia chagásica. Mas, outras entidades mórbidas igualmente ocuparam a atenção dos médicos do Instituto: a febre amarela de que, com os de MIGUEL COUTO e AZEVEDO SODRÉ, os mais completos estudos clínicos são até hoje os realizados por SINVAL LINS; a leishmaniose visceral, sob o ponto de vista clínico investigada no Brasil por EVANDRO CHAGAS; a doença de Lutz que antes fora tão bem descrita em seus aspectos clínicos, anátomo-patológicos e etiológicos por seu descobridor e depois por MIGUEL PEREIRA e GASPAR VIANNA; o pênfigo foliáceo, que guarda até hoje o segredo de sua etiologia; a leishmaniose tegumentar, com suas lesões mutilantes, às vezes mesmo terebrantes da face, muitas vezes hoje corrigidas em Manguinhos graças à generosa colaboração da cirurgia plástica de IVO PITANGUI.

Não foi, porém, somente no hospital do Instituto, que o pessoal de Manguinhos realizou estudos clínicos. Basta lembrar que a descoberta do tratamento das leishmanioses pelos antimoniais (na época o tártaro emético) devida a GASPAR VIANNA, foi feita antes de estar instalado o hospital. A experimentação da nova terapêutica foi realizada no Hospital Geral da Santa Casa de Misericórdia, e isso porque os técnicos do Instituto gozavam de boa acolhida, primeiro de FERNANDO TERRA e depois de EDUARDO RABELLO, sucessivamente professores catedráticos de dérmato-sifilografia na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Do mesmo modo foi na antiga 19.ª enfermaria da Santa Casa que HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e GASPAR VIANNA empregaram o mesmo método de tratamento, e com igual êxito, no granuloma venéreo.

Foi também naquele mesmo serviço clínico que se fizeram os estudos clínicos publicados no Brasil sobre a doença à qual o autor do presente ensaio deu o nome de "cromoblastomicose", nome a princípio muito discutido mas hoje quase unanimemente adoptado.

Os estudos clínicos realizados em Manguinhos, com ou sem as facilidades proporcionadas pelos serviços de dermatologia da Santa Casa e de outras instituições, levaram o autor destas linhas a apresentar a primeira distinção das formas clínicas da doença ou micose de Lutz (nomes que também por nós foram pela primeira vez propostos e adoptados), em linfático-tegumentares e linfático-viscerais. Essa classificação aceita e seguida no estrangeiro, foi ulteriormente completada com grande minúcia por AGUIAR PUPO e CUNHA MOTTA, em São Paulo, depois por outros autores, os quais muito aprofundaram e aperfeiçoaram o conhecimento das formas tegumentares da doença.

UMA CONTROVÉRSIA DESCABIDA

No princípio do século, numa época em que, não só no Brasil como em outros países, ainda a lição magistral proferida com eloquência muitas vezes construia a reputação do professor, movido por velhos ressentimentos, um "bel-esprit", que por seus trabalhos de medicina nunca se fez autoridade e cujas produções literárias estão hoje esquecidas, resolveu sem propósito intervir numa polêmica entre pesquisadores de Manguinhos, sobre assunto em que não tinha a mais remota competência. Além de, em um de seus livros didácticos, depreciativamente referir-se à doença de Chagas como "doença de Lassance, de que se conhecem cerca de quarenta casos", num discurso pronunciado em sessão solene da Academia Nacional de Medicina, formulou conceito, de que talvez mais tarde se tenha arrependido, qualificando todo um grupo de pesquisadores do Instituto de "bisonhos descrevedores de espécies novas".

Essas agressões, várias vezes repetidas, acabaram por motivar revide e, o que melhor foi, partiu este de pessoas que não trabalhavam em Manguinhos: PACHECO LEÃO, LAFAYETTE DE FREITAS, RAUL PENNA e MÁRIO PINOTTI. Não tendo melhor defesa, o escritor leviano limitou-se a alegar que a resposta vinha assinada por um Pacheco, dois anônimos e um pseudônimo, alegação que o futuro haveria de infirmar integralmente.

Esse incidente, meio sério meio jocoso, entretanto, reflectia de certo modo a maneira de pensar de alguns, para quem os estudos de morfologia e de sistemática constituem uma actividade científica de importância secundária.

O assunto nos parece mesmo de grande consequência, não só sob o ponto de vista da pesquisa biológica geral, como particularmente no que diz respeito ao desenvolvimento e às actividades da Escola de Manguinhos. Daí, julgarmos que não é inoportuno dele tratar mais pormenorizadamente, procurando determinar até que ponto são relevantes ou irrelevantes os estudos de morfologia e de sis-

temática em relação ou em comparação com os de outros capítulos da biologia.

Não sendo raro nessa matéria que se externem opiniões extremadas e geralmente menos fundamentadas, preferimos não imitar a atitude prudente do imortal autor do *Don Quijote*, quando disse que "naturalmente soy poltrón y perezoso de andarme buscando autores que digan lo que yo sé decir sin ellos". E, ao contrário de CERVANTES, vamos multiplicar as citações, recorrendo ao testemunho de quem, pelo vulto e grandeza de seus trabalhos, tenha autoridade para pôr a questão em seus verdadeiros termos.

Foi um dos maiores gênios que já produziu a humanidade, GOETHE, quem, em 1817, introduziu na terminologia científica a palavra "morfologia" e, da morfologia, partiu para algumas de suas mais extraordinárias concepções científicas que assinalam a verdadeira presciência de que era dotado, a da origem dos órgãos reprodutores dos fanegamos a partir das folhas, a do papel dos envólucros florais na reprodução das plantas superiores e a teoria vertebral do crânio que formulou ao mesmo tempo que OKEN e que GEOFFROY SAINT-HILAIRE, mas independentemente de ambos.

Só essa origem do termo "morfologia" e os exemplos citados das deduções e generalizações a que podem conduzir os estudos morfológicos inteligentemente empreendidos, deveriam bastar para que houvesse mais comedimento nas críticas que, quase sempre em desconhecimento de causa, única desculpa aceitável no caso, são dirigidas a quem se dedica a estudos morfológicos.

Além disso, é preciso reflectir que, tanto sob o ponto de vista ontogenético como sob o filogenético, a morfologia não tem carácter estático, uma vez que a essência mesma da vida reside na constante transmutação, da forma exterior, da estrutura e da composição química. Ao morfologista não cabe, pois, simplesmente descrever uma forma fixa e imutável que, esta, representa apenas um instante na existência do ser vivo. Tem ele, ao contrário, por missão registar a incessante modificação das formas, a sucessão dos tipos estruturais, as variações do próprio indivíduo em sua evolução ontogenética e na resposta que dá aos estímulos externos e internos, do mesmo modo que as variações dentro da espécie com suas flutuações e variedades ecológicas e geográficas, e, finalmente, as variações dentro dos grupos de categoria sistemática superior, o que corresponde à evolução filogenética.

Esses os objectivos da morfologia.

Quanto à sistemática, que, em parte se baseia na morfologia, em parte nas características bioquímicas e ecológicas do ser vivo, segue ela as regras da taxinomia, que é a teoria das classificações, procurando estabelecer e constantemente aperfeiçoar estas últimas, cujo objectivo final é, não só identificar ou determinar espécies, como ainda retratar sua história filogenética e traçar um quadro geral da natureza viva. As classificações assim elaboradas devem, pois, ser tidas sempre como construções provisórias, baseadas em conhecimentos sempre maiores mas sempre incompletos e que devem estar num processo ininterrupto de alteração, sem nunca pretenderem ter atingido a meta final.

Por isso, no empenho de uma sempre mais perfeita classificação, é preciso não perder de vista a limitação intransponível das possibilidades do espírito humano e os perigos que arrosta todo aquele que empreende as vastas sínteses e as grandes generalizações. A esses, já no século XVIII, e em suas *Pensées sur l'Interprétation de la Nature*, advertiu CONDORCET: "Recueillir et lier les faits, ce sont deux occupations bien pénibles, aussi les philosophes les ont partagées entre eux. Les uns passent leur vie à rassembler des matériaux, manoeuvres utiles et laborieux; les autres, orgueilleux architectes, s'empressent à les mettre en oeuvre. Mais le temps a renversé presque tous les édifices de la philosophie rationelle. Le manoeuvre poudreux apporte tôt ou tard, des souterrains où il creuse en aveugle, le morceau fatal à cette architecture élevée à force de tête; elle s'écroule, et il n'en reste que des matériaux confondus pêle-mêle, jusqu'à ce qu'un autre génie téméraire en entreprenne une combinaison nouvelle".

Em defesa dos estudos morfológicos, muito já foi dito por quem tem autoridade para fazê-lo.

Na introdução à primeira de suas lições professadas em 1950 no Instituto Oswaldo Cruz, o ilustre neurólogo e embriologista dinamarquês, KNUD KRABBE, muito bem retratou as tendências divergentes que comumente hoje se observam entre os biologistas. Dizia ele: "L'intérêt pour la physique et la chimie, pour tout ce que peut être mésuré et pesé, gagne de plus en plus de terrain en biologie et en médecine". E, lembrando que as formas não se podem exprimir em números, acrescentava: "Les formes sont aussi bien que les chiffres des réalités soumises aux lois naturelles".

Outro eminente biologista, ALFRED GIARD, que entre muitas outras contribuições foi quem chamou atenção para o fenômeno da castração parasitária, no ensaio que escreveu para uma colectânea intitulada *De la méthode dans les sciences*, já anos antes mostrara qual é em biologia o significado real dos dados morfológicos. Diz GIARD: "D'un

seul mot on peut dire que la morphologie équivaut dans les sciences naturelles à la méthode graphique dans les sciences physiques. En enregistrant l'action des facteurs externes et internes qui agissent sur les êtres animés elle nous permet de formuler plus complètement certaines lois physiologiques et nous pose des problèmes dont sans elle nous ne soupçonnerions pas l'existence".

No mesmo sentido se exprimiu o notável investigador sueco, IVAR BROMAN, organizador do Instituto Tornblad de Embriologia Comparativa, da Universidade de Lund, quando disse que "a embriologia comparativa se ocupa, antes de mais nada, com as experiências grandiosas realizadas com os seres vivos, durante milhões de anos, pela própria natureza".

Está claro que tudo o que faz o homem pode ser executado com maior ou menor perfeição e que o pesquisador, não fugindo a essa regra geral, poderá investigar com maior ou menor elevação de vistas, com maior ou menor descortínio e inteligência, com maior ou menor compreensão e acuidade para interpretar o significado dos factos observados. Nesse sentido, será preciso distinguir quem simplesmente observa, regista e descreve as características morfológicas, de quem através delas consegue reconstituir retrospectivamente as causas de que as formas são os efeitos.

Como a morfologia, a sistemática tem tido, em Manguinhos e alhures, os seus detractores que não lhe compreendem a importância e a utilidade. Deveriam estes reflectir nas palavras de um dos fundadores da paleontologia e da anatomia comparativa, um dos maiores naturalistas de todos os tempos, GEORGES CUVIER, que ensina: "La détermination précise des espèces et de leurs caractères distinctifs fait la première base sur laquelle toutes les recherches de l'histoire naturelle doivent être fondées. Les observations les plus curieuses, les vues les plus nouvelles, perdent tout leur mérite quand elles sont dépourvues de cet appui et, malgré l'aridité de ce genre de travail, c'est par là que doivent commencer tous ceux qui se proposent d'arriver à des résultats solides".

Outro biologista de renome, MAURICE CAULLERY, em seu excelente livro sobre o parasitismo e a simbiose, adverte: "Il va de soi que, tout en ayant en vue les questions d'ordre général, on ne peut les traiter que sur des faits concrets. Le général, dans le domaine biologique ne vit réellement que par le particulier".

Também vale a pena citar em defesa da sistemática as palavras do maior patrono, se não o fundador, da doutrina evolucionista, CHARLES DARWIN: "How painfully true it is that no one has the right to examine the question of species who has not minutely described many".

Tudo que acima ficou dito, porém, não significa que se deva considerar a sistemática como o objectivo da ciência. Ela é um instrumento de trabalho, instrumento indispensável, sem o qual não é possível executar obra durável no domínio da biologia. Sobre isso insistiram muitos dos mais notáveis naturalistas. Mencionaremos dois que muito trabalharam no Brasil, há mais de cem anos atrás. HENRY WALTER BATES, que, segundo se calcula, só em Tefé, no rio Amazonas, colheu três mil espécies novas e que no Brasil realizou os primeiros estudos que se fizeram sobre o fenômeno do mimetismo, em sua obra clássica, *A naturalist on the river Amazon*, escreveu: "The discovery of new species, however, forms but a small item in the interest belonging to the study of the living creation. The structure, habits, instincts, and geographical distribution of some of the oldest-known forms supply inexaustible materials for reflection".

LOUIS AGASSIZ, em sua *A Journey to Brasil*, apesar de ter descrito do Amazonas cerca de mil e oitocentas espécies de peixes de água doce, é ainda mais severo: "When less was known of animals and plants the discovery of new species was the great object. This has been carried too far, and is now almost the lowest kind of scientific work. The discovery of new species as such does not change the feature in the science of natural history".

Quem muito bem situou o problema foi um antropologista, PAUL RIVET, o fundador do Museu do Homem, de Paris: "La description des objets, toujours indispensable, ne représente plus que la moitié de la tâche".

HELMINTOLOGIA

A helmintologia médica teve cultores no Brasil desde meados do século XIX, quando floresceu a Escola da Bahia e quando no Rio de Janeiro trabalhavam isolados alguns precursores. Datam dessa época os estudos de WUCHERER sobre a filariose de Bancroft e o seu agente etiológico ao qual SILVA ARAUJO (pai) deu o nome de *Wuchereria*, hoje unanimemente adoptado, os trabalhos de JÚLIO DE

MOURA sobre ancilostomose, de PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES, sobre a *Dirofilaria* que RAPHAËL BLANCHARD denominou *Magalhãesi*, de ALFREDO RIBEIRO DA LUZ sobre a estrongiloidose (que então se chamava anguilulose) e que ele foi o primeiro a diagnosticar no Brasil.

Na realidade, porém, foi em Manguinhos que com maior pujança se desenvolveu a escola helmintológica brasileira. Antes de vir trabalhar em Manguinhos, já era LUTZ helmintologista de reputação firmada, contando entre suas publicações a memória sobre ancilostomose, incluída nos *Klinische Vortraege* editada em Leipzig por R. V. VOLKMANN, publicada em 1885 no periódico *Innere Medizin* e em português sob a forma de livro.

As pesquisas helmintológicas em Manguinhos tiveram início com os trabalhos de JOSÉ GOMES DE FARIA que, além de várias publicações sobre Trematódios, de que descreveu algumas espécies novas, em 1910 publicou a descoberta do *Ancylostoma braziliense*, numa época em que se confundiam todos os ancilóstomas de cães e de gatos, como se representassem uma só espécie, identificando-os com o *Ancylostoma caninum* descrito por ERCOLANI, em 1859. Foi só em 1911, que LOOSS descreveu o *A. ceylanicum*, que a princípio se supôs fosse idêntico à espécie de GOMES DE FARIA e dela sinônimo. Em 1954, BIOCCA reestudou o *Strongylus tubaeforme*, descrito por ZEDER em 1800, mostrando que este parasito do gato doméstico é também um ancilóstomo, *A. tubaeforme*, que bem se distingue das espécies encontradas no cão.

Hoje se reconhece no *Ancylostoma braziliense* de GOMES DE FARIA a principal causa de *larva migrans* cutânea, a chamada dermatose serpeante linear.

Sob a orientação do Prof. ANTONIO AUSTREGÉSILO, do mesmo modo que MIGUEL RAUL FEITOSA, submeteu-se GOMES DE FARIA a experiência de auto-inoculação com o *Necator americanus*, com este outro agente de ancilostomose se infestando e repetindo as observações e os resultados de LOOSS, relativos ao *Ancylostoma duodenale*.

Em 1910, publicou GOMES DE FARIA, em colaboração com LAURO TRAVASSOS, uma monografia sobre os ancilostomídeos parasitos do homem, em que se faz um estudo de conjunto desses agentes de ancilostomose.

Logo atraído por trabalhos em outras especialidades, GOMES DE FARIA afastou-se da pesquisa helmintológica. Sua inteligência multímoda e seu espírito versátil (foi bacteriologista de primorosa técnica, deu início no Brasil aos estudos de biologia marinha, chegou a ser um dos nossos melhores tecnologistas de fermentações industriais) não lhe permitiram ficar adstrito ao âmbito de uma especialidade. Vencida uma dificuldade técnica, comprovado um facto novo, quase sempre se desinteressava de publicá-lo e passava adiante, a novas investigações em terreno já diverso. Já então lançara as bases dos estudos helmintológicos no Instituto Oswaldo Cruz, fundando o respectivo laboratório, que se deveria tornar a futura Secção de Helmintologia. Nesses estudos iniciara GOMES DE FARIA um discípulo e continuador que iria fazer honra ao mestre, LAURO PEREIRA TRAVASSOS. Este último abraçou a especialidade, a ela se dedicou com afinco e perseverança, e, durante cerca de cinquenta anos, produziu uma obra monumental de sistemática helmintológica, comparável à de STILES nos Estados Unidos, à de RAILLIET e HENRY na França, à de YAMAGUCHI no Japão e à de SKRJABINE e seus colaboradores na Rússia.

Em torno de LAURO TRAVASSOS, verdadeiro chefe da escola helmintológica brasileira, se reuniram muitos discípulos e colaboradores, alguns dos quais também se dedicaram à entomologia. Dentre eles distinguiu-se sobretudo JOÃO TEIXEIRA DE FREITAS, que se dedicou especialmente ao estudo dos Nematódios. As monografias de LAURO TRAVASSOS e seus colaboradores sobre vários grupos de Nematelmintos (acantocéfalos, tricostrongilídeos), são hoje clássicas e de obrigatória consulta para os especialistas. O mesmo vem acontecendo, dora em diante, com a revisão dos *Trematódios do Brasil* publicada não há muito por LAURO TRAVASSOS, TEIXEIRA DE FREITAS e ANNA KOHN.

Todos esses trabalhos da escola de LAURO TRAVASSOS são exclusivamente de sistemática helmintológica, especialidade em que se tornou ele autoridade internacional reconhecida.

No campo da helmintologia, entretanto, em Manguinhos e fora dele, seria grave falta omitir o nome de ADOLPHO LUTZ. Foi esse ilustre tropicalista o primeiro a reconhecer que certos ancilostomídeos encontrados no intestino do Homem eram desprovidos de dentes. Não deu ele, entretanto, ao facto que observara maior importância, e assim perdeu a oportunidade de reconhecer nesses ancilostomídeos desprovidos de dentes a espécie que STILES identificou sob a denominação de *Necator americanus*. Isso, entretanto, aconteceu muito antes de ingressar LUTZ em Manguinhos.

No Instituto Oswaldo Cruz, as pesquisas helmintológicas de LUTZ versaram o problema da evolução do *Schistosoma Mansoni*, de que minuciosamente investigou todas as fases. Esses estudos, que exigiam pormenorizada investigação dos moluscos hospedadores intermediários e das formas de cer-

cárias de diferentes tipos neles encontradas, conduziram LUTZ a se tornar um especialista em planorbídeos e outros grupos de moluscos. Do estudo das cercárias que encontrava nesses últimos, partiu LUTZ para as pesquisas dos respectivos adultos e seus hospedadores definitivos e assim foi levado a se especializar em anfíbios. Num encadeamento lógico e imprevisível da pesquisa, foi LUTZ sendo por esta conduzido ao estudo de diferentes grupos de animais que *a priori* não se poderia imaginar tivessem qualquer relação com o problema da esquistossomose. Naturalmente, no decorrer desses estudos, além da questão principal que o preocupava, foram várias as contribuições helmintológicas que pôde apresentar ADOLPHO LUTZ.

O mesmo problema da esquistossomose foi estudado em Manguinhos, sob o ponto de vista da epidemiologia, por GETH JANSEN, que orientou e organizou em Catende, no Estado de Pernambuco, o primeiro posto experimental de combate à doença no Brasil. Aí se fazia de um lado a destruição dos caramujos hospedadores intermediários pela cal extinta e pelo sulfato de cobre, e de outro lado o tratamento dos doentes pelos antimoniais, de modo a suprimir a fonte de infestação daqueles moluscos. Também esse posto encaminhou a solução do problema do saneamento básico, com a instalação de banheiros públicos, tanques para lavadeiras e construção de fossas, bem como fazendo a educação sanitária concomitante. Com esses trabalhos, o índice de infestação por *Schistosoma Mansoni* da população daquela localidade baixou de mais de 50 por cento para 3 por cento.

Outrossim, GETH JANSEN se ocupou do problema das vias de disseminação e da distribuição geográfica da esquistossomose de Manson no Brasil, publicando no *Weltseuchen Atlas* de RODENWALDT um mapa demonstrativo. Sobre aspectos da malacologia, LOBATO PARAENSE trouxe muitas contribuições interessantes.

ENTOMOLOGIA

Não é fácil imaginar hoje como se tenha rapidamente desenvolvido em Manguinhos uma escola de entomologistas e de acarologistas que, num dado momento, chegou a contar especialistas qualificados em todos os grupos de insectos e de ácaros produtores ou transmissores de doenças do Homem e dos animais de importância econômica.

As bases dessa escola foram sem dúvida lançadas por OSWALDO CRUZ que, nunca tendo sido um especialista nesses assuntos, deles adquirira no Instituto Pasteur de Paris os conhecimentos fundamentais que lhe permitiram ocupar-se do estudo dos culicídeos. Disso são testemunhos, não só os trabalhos em que estabeleceu os gêneros *Chagasia* e *Manguinhosia*, como também a declaração de ROCHA-LIMA, de que o seu primeiro serviço prestado a Manguinhos, isso em 1900 quando lá não havia mais ninguém trabalhando no assunto, foi o de desenhar uma asa de mosquito.

No entanto, logo depois, assoberbado que passou a estar com as tarefas administrativas e de rotina, no próprio Instituto e na Directoria Geral de Saúde Pública que também lhe fora entregue, OSWALDO CRUZ se viu forçado a abandonar as pesquisas científicas que pessoalmente vinha realizando. E o estudo dos culicídeos, passou-o OSWALDO CRUZ a CARLOS CHAGAS e a ARTHUR NEIVA, por ele inicialmente orientados. Tais estudos visaram a princípio os anofelinos, por sua importância na transmissão da malária humana.

NEIVA prosseguiu na pesquisa entomológica na qual cedo se ilustrou, enquanto CHAGAS tomava o caminho da protozoologia, sem abandonar de todo o estudo dos insectos que tantas relações têm com esta última especialidade. Aliás, essa correlação fez com que também NEIVA, já entomologista provecto, de tempos a tempos trouxesse contribuições originais ao estudo dos protozoários.

Data de alguns anos mais tarde a iniciação, que tão magníficos frutos deveria produzir, de COSTA-LIMA, iniciação que podemos traçar à época em que, com OSWALDO CRUZ, tomou parte no combate à febre amarela em Santarém e Óbidos no Estado do Pará, quando teve a oportunidade de estudar profundamente a biologia do transmissor da forma urbana dessa doença, o *Stegomyia aegypti*.

Em 1908, transferia-se para Manguinhos o já então afamado tropicalista ADOLPHO LUTZ, que durante muitos anos dirigira em São Paulo o Instituto Bacteriológico que hoje tem o seu nome. Brasileiro nato (nascera no Rio de Janeiro em 1855), de educação germânica (sua família sempre conservou as prerrogativas dos burgueses de Berna), tivera LUTZ na Europa uma formação básica ao mesmo tempo de médico e de naturalista. Vinha para Manguinhos portador de um nome interna-

cionalmente respeitado e de uma vasta bagagem científica representada por numerosas contribuições trazidas ao estudo da parasitologia e das doenças parasitárias e infectuosas.

Chegava LUTZ a Manguinhos em plena actividade entomológica. Na tese de doutoramento sobre *Mosquitos do Brasil*, apresentada em 1904 à Faculdade de Medicina da Bahia, por seu discípulo, depois grande mestre da Faculdade de Medicina de São Paulo, CELESTINO BOURROUL, apresentara LUTZ uma "Sinopse e sistematização dos mosquitos do Brasil", incluindo vários quadros e chaves de classificação dos mosquitos da família dos culicídeos, os quais, no Brasil, são conhecidos pelos nomes vulgares de pernilongos, muriçocas e carapanãs. Nessa "Sinopse", apresentava LUTZ uma nova classificação em que modificava a então geralmente adoptada em toda parte. Esta o reputado especialista no assunto do Museu Britânico, FRED. V. THEOBALD, apresentara nos primeiros volumes de sua monumental (cinco volumes de texto e um de estampas) *Monografia dos Culicídeos do Mundo*, publicada de 1901 a 1910. THEOBALD logo aceitou a classificação de LUTZ e passou a usá-la, a partir do volume quarto (1907) de sua "Monografia", a propósito fazendo os comentários que aqui transcrevemos:

"Dr. A. LUTZ has adopted a new grouping of families and genera which seems to be based on excellent grounds". (pág. 15). E adiante:

"It is nevertheless by far the best general classification yet proposed and it is followed in this volume" (pág. 17).

O que pouca gente sabe e está consignado à página VI do volume I da "Monografia" de THEOBALD, é que toda a colecção de mosquitos até aquela época reunida por LUTZ foi enviada ao especialista inglês e, como quase tudo..., deve hoje fazer parte do acervo do Museu Britânico. Outro brasileiro notável, a quem THEOBALD por várias vezes se refere, é o pioneiro dos estudos sobre plasmódios da malária no Brasil, FRANCISCO FAJARDO, que também a ele enviou suas colecções. O facto de terem ido parar no estrangeiro colecções como estas, preciosas sob vários aspectos, mas principalmente por incluirem os exemplares-tipos das espécies novas que foram descritas pela primeira vez por seus coleccionadores, é realmente lamentável. Mas, quando se conhece o destino que tiveram, e que ainda hoje muitas vezes têm, outros documentos científicos importantes em nosso País, é um consolo pensar que aqueles ao menos estão conservados numa instituição que os sabe apreciar, como o Museu Britânico.

Na "Sinopse" de LUTZ são descritas muitas espécies novas para a ciência e cuja determinação exacta tem uma grande importância para a epidemiologia das doenças transmitidas por tais hematófagos. Também aí se inclui um catálogo, na época completo, dos culicídeos "brasileiros e sul-americanos", como diz LUTZ.

Durante muitos anos, foi na "Sinopse" de LUTZ e na tese de BOURROUL, por ele orientada, que se apoiaram os investigadores brasileiros, entre eles certamente OSWALDO CRUZ, CARLOS CHAGAS e ARTHUR NEIVA, ocupados com o estudo desse grupo de insectos de tanta importância médica como transmissores de doenças do Homem e de outros animais.

A orientação e os resultados dessa fase dos estudos de sistemática dos culicídeos, realizados em Manguinhos, ficaram gravados na excelente monografia de ANTONIO PERYASSÚ, *Culicídeos do Brasil*, apresentada como tese de doutoramento à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1908. Não parou aí, porém, a actividade científica de PERYASSÚ. Pelo contrário, já então nos serviços federais de Saúde Pública, publicou ele muitos outros trabalhos sobre os culicídeos do Brasil, quase todos eles visando os anofelíneos e seu papel na transmissão da malária humana.

A orientação de THEOBALD e de LUTZ, no que respeita à sistemática dos culicídeos, foi algum tanto modificada em consequência dos trabalhos de entomologistas americanos e, em particular, da publicação, intitulada *Mosquitos da América do Norte, da América Central e das Antilhas*, da autoria de L. O. HOWARD, HARRISON G. DYAR e F. KNAB. Dos dois gêneros de anofelíneos estabelecidos por OSWALDO CRUZ, *Manguinhosia* desapareceu na sinonímia de *Anopheles* e sua espécie-tipo *M. Lutzii*, mudando de gênero, teve também que mudar de nome específico, porque, descrito pelo próprio OSWALDO CRUZ, já existia desde 1901 outro *Anopheles Lutzii*. E *Manguinhosia Lutzii*, por proposta de DYAR e KNAB, passou a chamar-se *Anopheles Peryassui*. Ao contrário, o gênero *Chagasia*, estabelecido por OSWALDO CRUZ para uma espécie que ele denominou *Chagasia Neivae* que se verificou ser sinônima da que LUTZ, em 1904, descrevera sob o nome de *Chagasia Fajardi*, teve sua legitimidade confirmada, sendo, além de *Anopheles*, o único gênero de anofelíneos aceito e admitido como legítimo por todos os especialistas. Além da espécie-tipo, *Chagasia Fajardi*, foram-lhe acrescentadas duas outras: *C. bathanus* DYAR, 1928, e *C. Bonneae* ROOT, 1927. Não mais se falou na existência no Brasil de anofelíneos do gênero *Cellia*, os mosquitos antes nele incluídos tendo passado para o gêne-

ro (ou, segundo os autores americanos sub-gênero) *Nyssorhynchus*. No entanto, de um modo geral, subsistiram e foram consideradas como legitimamente estabelecidas as espécies descritas por LUTZ e pelos pesquisadores de Manguinhos. Esse trabalho de revisão foi realizado no Brasil, de um lado pelos especialistas americanos da Fundação Rockefeller (R. C. SHANNON, F. M. ROOT, N. C. DAVIS, H. V. KUMM e outros) e, de outro lado pelos entomologistas brasileiros de Manguinhos (COSTA-LIMA, ARTHUR NEIVA, CESAR PINTO) e de São Paulo (AYROSA GALVÃO, ANTUNES, LANE, UNT).

Quando ainda estava em São Paulo, como director do Instituto Bacteriológico, hoje Instituto Adolpho Lutz, e provavelmente desde 1900, iniciara LUTZ suas investigações sobre tabanídeos ou mutucas, e isso, segundo sua própria informação, utilizando a colecção que reunira com a colaboração de seus colegas daquela instituição.

Por vários anos, ora só, ora em colaboração com ARTHUR NEIVA ou com OLIVEIRA-CASTRO, iria LUTZ continuar em Manguinhos os seus estudos sobre tabanídeos de que resultaram várias publicações feitas nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* e esplendidamente ilustradas pelo mágico pincel de CASTRO-SILVA.

Em 1958, por sugestão da D.ra BERTHA LUTZ, filha de ADOLPHO LUTZ, e graças a um auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas, veio ao Brasil um especialista de renome, G. B. FAIRCHILD, do "Gorgas Memorial Laboratory", do Panamá, com o objectivo único de estudar a colecção de mutucas de LUTZ, conservada em Manguinhos e no Instituto Butantã. No relatório que, em 1956, publicou nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (t. 59, f. 2: 188), escreve FAIRCHILD:

"The collection of Tabanidae brought together by Dr. ADOLPHO LUTZ, which forms the basis of this report, is one of the largest and richest regional collections in existence. Besides 89 of the 95 species described by LUTZ, it contains an estimated 6.000 specimens representing between 300 and 400 species, very largely from Brazil".

Também em Manguinhos prosseguiram os estudos entomológicos de LUTZ com as memórias sobre os flebótomos ou biriguis, transmissores das leishmanioses e da bartonelose neotrópica, doença mais conhecida pelos nomes de verruga peruana, febre de Oroya ou doença de Carrión. Foram também estudadas por LUTZ as ceratopogoníneas ou maruins, que tanto atormentavam, de madrugada e ao cair da tarde, os novatos ainda não ambientados em Manguinhos e não imunizados contra a picada urticante desses pequeninos insectos. Eram eles então muito abundantes nos arredores do Instituto, pois suas larvas se desenvolviam nas águas salobras colectadas nos buracos dos guaiamus, crustáceos decápodos que, às miríades de milhões, viviam nos mangues, a vegetação semi-aquática e halófila de *mangrove*, à qual Manguinhos deve seu nome. Os simulídeos ou borrachudos que, ao contrário dos maruins, só picam à luz do dia e cujas larvas vivem nas águas doces e agitadas, presas às pedras e à vegetação aquática, nas cachoeiras, cascatas e corredeiras, foram estudados por LUTZ, antes mesmo de se saber que são transmissores de filarioídeos e propagadores de filarioses do Homem.

A fase entomológica das pesquisas de LUTZ se encerra em 1920, com a publicação da memória sobre os blefarocerídeos, esses minúsculos insectos que frequentemente vemos voltearem no espaço em torno de nós, em nuvens de que mal chegamos a divisar os componentes.

É que, desde 1916, vinha LUTZ sendo absorvido por suas investigações relativas à esquistossomose, as quais num encadeamento lógico, o iriam conduzir a ocupar-se da fauna brasileira de moluscos terrestres e de água doce e, já no fim da vida, tornar-se especialista reconhecido em batráquios anuros.

Outro ilustre entomologista de Manguinhos foi ARTHUR NEIVA que deixou contribuições importantes para o conhecimento dos anofelíneos e outros culicídeos brasileiros, deles descrevendo várias espécies novas, algumas delas em colaboração com CESAR PINTO, e, além disso tendo feito interessantes estudos sobre a bionomia desses insectos, em particular em relação com a transmissão da malária humana.

Mas, a grande obra entomológica de ARTHUR NEIVA foi a que, como vanguardeiro no assunto, realizou, estudando a bionomia e a sistemática dos triatomíneos, chamados "barbeiros", "chupões" ou "vinchucas", que os trabalhos de CHAGAS tinham acabado de pôr em evidência como transmissores da tripanossomose americana. Antes das pesquisas de NEIVA sabia-se que pelo menos alguns representantes daquela tribo de hemípteros reduvídeos eram capazes de sugar sangue. Nesse sentido, não deixavam dúvidas as observações de CHARLES DARWIN, realizadas em 1835, na aldeia de Lujan, na província argentina de Mendoza, durante a famosa viagem do "Beagle" (*), quando ele próprio fora picado por esses insectos. Mas ainda longe se estava de supor que esse hematofagismo fosse obrigatório e extensivo aos dois sexos, a todas as fases

(*) *Voyage of a naturalist around the world*, New York, Harper and Brothers, 1855, vol. II, cap. III.

evolutivas e a todas as espécies do grupo. Essa extensão e essa obrigatoriedade do hematofagismo dos barbeiros, só as investigações de NEIVA vieram demonstrar. Isso se comprova pela leitura das obras dos mais notáveis entomologistas que antecederam a NEIVA no estudo desses insectos. BURMEISTER, o ilustre entomologista alemão que por tantos anos trabalhou na República Argentina, em seus escritos e, em particular em seu clássico tratado, assinalou o hematofagismo dos adultos de triatomíneos, dizendo que todos se alimentam do sangue de mamais, o que se verificou mais tarde não ser inteiramente exacto, uma vez que algumas espécies são sugadoras de aves. Outrossim, não fala ele no hematofagismo das ninfas.

Se o hematofagismo dos barbeiros era apenas conhecido para os adultos de algumas de suas espécies e para outras apenas suspeitado, nada, absolutamente nada, se sabia dos outros aspectos de sua bionomia. Foi NEIVA quem, estabelecendo os métodos de criação dos triatomíneos no laboratório, pôde acompanhar-lhes o desenvolvimento e demonstrar como este é lento, prolongando-se do desalagamento do ovo e libertação das ninfas do primeiro estádio, por vários meses, até ser atingida a fase adulta.

O trabalho capital de NEIVA foi, porém, no terreno da sistemática. Visitando as colecções entomológicas dos grandes museus dos Estados Unidos e da Europa, aí em particular da Escandinávia que tantos e tão ilustres naturalistas produziu e tantos valorosos exploradores tem enviado para as mais remotas e menos conhecidas regiões do Globo, conseguiu NEIVA encontrar os tipos, isto é, os exemplares originais em que se basearam os diferentes autores para descreverem as várias espécies hoje conhecidas de triatomíneos. Estudando esses exemplares-tipo, comparando-os com os recolhidos por ele mesmo, por CHAGAS e por outros investigadores, lançou NEIVA as bases da sistemática desse grupo de insectos de tão grande importância médica e econômica. Foram muitas as espécies novas que descreveu, para não falar nas que, já descritas, eram pouco conhecidas e que eram na verdade todos os representantes da tribo. Nessa tarefa, que foi a princípio o único a executar, se lhe vieram a juntar discípulos e colaboradores que lhe seguiram as trilhas: no Brasil, CESAR PINTO e HERMAN LENT; na República Argentina DEL PONTE, ZUCCARINI e, em outros domínios, ANA PETROCCHI e BELARMINO BARBARÁ. Continuaram tais trabalhos, entre muitos outros, na Argentina SALVADOR MAZZA, na França EMILE BRUMPT e F. LARROUSSE.

Tratando da obra de ARTHUR NEIVA não é possível deixar de mencionar o papel que representou a Escola de Manguinhos num episódio que veio a ter muito amplas consequências no desenvolvimento da pesquisa científica no País.

Em Maio de 1924, foi denunciada a presença no Brasil da "broca do café", o insecto coleóptero *Hypothenemus Hempei* FERRARI, 1867, importado provavelmente da África de onde é originário e isso talvez já desde 1913.

Num dado momento, antes de o ser pela uredínea *Hemileia vastatrix*, pareceu gravemente ameaçado o mais importante dos nossos produtos agrícolas, o qual, ainda e apesar de tudo, continua sendo a principal fonte de divisas estrangeiras para o nosso País.

Nessa conjuntura, o Estado de São Paulo resolveu tomar providências imediatas. Para combater a "broca do café" constituiu-se uma comissão de que faziam parte, com EDMUNDO NAVARRO DE ANDRADE, dois dos mais autorizados entomologistas de Manguinhos, ARTHUR NEIVA e COSTA-LIMA. Identificado por este último especialista o insecto responsável pelos estragos observados e outro que com ele se confundia, o *Hypothenemus plumeriae* (NOERD., 1856), não cessou aí a influência dos técnicos do Instituto Oswaldo Cruz. ARTHUR NEIVA tomou a iniciativa de uma medida coadjuvante, a luta biológica contra a "broca do café", importando um seu inimigo natural, a chamada "vespa de Uganda", parasito da broca, o micro-himenóptero *Prorops nasuta*. ADOLPHO HEMPEL, entomologista que veio a ser mais tarde do Instituto Biológico, foi especialmente designado para ir buscar na África, sua pátria de origem, esse outro insecto que passou a ser utilizado no Brasil na luta contra a broca do café.

Entretanto, com a ampla visão que caracterizava sua privilegiada inteligência, percebeu ARTHUR NEIVA que, no episódio em que acabava de ter tão destacada intervenção, estava envolvido muito mais do que o problema, importante mas isolado, do combate a uma determinada doença de planta de alto valor econômico. No facto, uma situação geral se desenhava com toda a nitidez: o desaparelhamento total das nossas organizações governamentais e administrativas ao terem de enfrentar problemas técnicos de maior importância para a vida do País, com reflexos até em sua situação política.

E foi assim que, do episódio grave mas restrito da introdução de uma doença de planta, surgiu a criação do Instituto Biológico de Defesa Agrícola, hoje denominado simplesmente Instituto Biológico de São Paulo, o qual cedo se transformou numa das mais prestigiosas instituições científicas do Brasil. Entretanto, ARTHUR NEIVA não foi o único técnico de Manguinhos a trabalhar na nova ins-

tituição. Tornou-se ela desde logo um centro de atracção para o qual convergiram muitos técnicos formados no Curso de Aplicação do Instituto Oswaldo Cruz, além de nela ter vindo trabalhar um já experimentado pesquisador de Manguinhos, GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO.

Todavia, o grande colaborador de ARTHUR NEIVA na obra de organização do Instituto Biológico e que originariamente também pertencia à Escola de Manguinhos, foi o ilustre patologista HENRIQUE DA ROCHA-LIMA, que acabava de regressar da Alemanha onde fora o organizador e chefe da divisão de patologia do Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo e professor de patologia da Universidade daquela cidade.

De modo que, crescendo e progredindo depois, com os recursos técnicos e científicos de que em tão grande escala dispõe o Estado de São Paulo, não deixa o Instituto Biológico de ter suas raízes mais profundas na Escola de Manguinhos.

Desde 1913, passou a trabalhar em Manguinhos um modesto pesquisador, ANGELO MOREIRA DA COSTA-LIMA, destinado a tornar-se em poucos anos personalidade científica do maior destaque em nosso meio, como o mais notável entomologista brasileiro de todos os tempos. Diplomado em medicina em 1910, logo deixou o cargo que como estudante exercia, de auxiliar acadêmico dos serviços federais de saúde pública, passando a fazer parte, como inspector sanitário, da comissão organizada por OSWALDO CRUZ para combater a febre amarela no Estado do Pará. Em Belém, mas sobretudo em Santarém e em Óbidos, teve COSTA-LIMA a primeira oportunidade de abordar a pesquisa entomológica, estudando a bionomia dos culicídeos e, com HUBER, então director do Museu Goeldi, realizando pesquisas sobre peixes larvófagos. Esses últimos estudos o conduziram a investigar problemas relativos à respiração das larvas dos culicídeos, os resultados obtidos tendo sido publicados nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. Com a extinção da febre amarela, terminada a missão que exercia no norte do País, veio COSTA-LIMA para o Rio de Janeiro e, em Manguinhos, no laboratório de ADOLPHO LUTZ, passou a preparar-se para o cargo que, cumulativamente com o de chefe de laboratório do Instituto, iria mais tarde passar a exercer, de professor de entomologia agrícola da Escola Superior de Agricultura, actual Faculdade Nacional de Agronomia da Universidade Rural.

No domínio da entomologia médica, a obra de COSTA-LIMA abrangeu estudos sobre a bionomia e a sistemática dos culicídeos, em particular dos anofelíneos, dos flebotomíneos, dos cimicídeos, dos sifonápteros, dos triatomíneos, em todos esses domínios boa parte de sua tarefa consistindo em corrigir impropriedades e erros que se tinham infiltrado e se vinham perpetuando pela intervenção no assunto de médicos, sanitaristas, parasitologistas e outros, nem sempre muito versados nos fundamentos científicos da entomologia. Também seus trabalhos concorreram para assentar em bases mais firmes a sistemática de quase todos esses grupos de insectos transmissores ou produtores de doenças do Homem e de outros animais. Assim, concorreu COSTA-LIMA para que, entre as orientações diferentes de THEOBALD e de LUTZ de um lado e de HOWARD, DYAR e KNAB de outro, se atingisse uma posição intermediária não divergente de qualquer das duas e aceitável por ambas as partes. A classificação dos flebotomíneos brasileiros, baseou-a COSTA-LIMA no estudo morfológico dos *genitalia* do macho e da espermateca das fêmeas e nos índices alar e palpal, tudo de acordo com a melhor orientação entomológica, o que entre nós anteriormente não tinha sido tomado na devida consideração.

Fora desse domínio dos insectos brasileiros de importância médica e veterinária, a obra entomológica de COSTA-LIMA foi ainda mais considerável. Ninguém tanto quanto ele contribuiu de um lado para o conhecimento dos insectos da fauna do Brasil e, de outro lado, para difundir entre os especialistas de nosso País, a metodologia correcta e o modo seguro de trabalho em sua especialidade. Testemunho dessa actuação é o grande *Catálogo dos insectos que vivem nas plantas do Brasil*, do qual vieram a público várias edições, sempre acrescidas de novas informações, e que constitui um guia indispensável para quem no Brasil se dedique à entomologia e à parasitologia agrícola. Na 3.ª edição dessa obra, estão mencionadas 1749 espécies de insectos que atacam plantas no Brasil, registando-se os vegetais atacados e assinalada a distribuição geográfica de cada um desses parasitos.

Contudo, a mais importante contribuição de COSTA-LIMA é o monumental tratado de entomologia a que deu o título *Insectos do Brasil*, o qual, para grande desgosto seu e grave prejuízo dos nossos entomologistas e naturalistas em geral, a doença lhe impediu de completar. Ainda assim, dos quinze volumes planejados, pôde COSTA-LIMA publicar nada menos de doze, os três restantes, nos quais estaria compreendido o vasto e importantíssimo grupo de insectos que constitui a ordem dos dípteros, não tendo podido ser redigidos. É que, já então, a vista ia faltando ao seu autor, que se não permitia descrever detalhes anatômicos ou

outras características que não tivesse pessoalmente observado a olho nú ou ao microscópio.

Sobre a obra de COSTA-LIMA, *Insectos do Brasil*, uma autoridade respeitada em tudo que se refere à zoologia, OLIVÉRIO M. DE OLIVEIRA PINTO, declara que é "livro ímpar entre os já publicados no Brasil no campo da zoologia geral, é o coroamento e remate de vasta obra realizada pelo seu autor no tocante à entomologia agrícola, conforme é fácil verificar pelo seu catálogo dos insectos que vivem nas plantas do Brasil". Livro ímpar, como ímpar foi a personalidade do seu autor, o mais completo de todos os entomologistas brasileiros.

Em outro escrito (*), tivemos oportunidade de relatar o que representava em Manguinhos o laboratório de COSTA-LIMA:

"O acanhado laboratório em que desde 1926 até a sua morte trabalhou e em que mal se podiam mexer ele, seus colaboradores e ajudantes, dentro em pouco se constituiu, não só em centro de estudos e de consulta para quantos desejavam iniciar-se sob sua orientação na investigação entomológica, como lugar obrigatoriamente visitado por entomologistas de todo o Brasil e muitos estrangeiros. Frequentador assíduo dele era o grande entomólogo e biologista de renome internacional, o franciscano, glória científica de sua ordem, Frei THOMAS BORGMEIER, fundador da *Scripta Entomologica* e da *Revista Brasileira de Entomologia*, periódicos de reputação não superada nos meios científicos da especialidade em todo o mundo. Lá também surgia de vez em quando o eminente naturalista e monge beneditino, Dom BENTO PICKEL. Foi lá também que conhecemos o patriarca da entomologia contemporânea, o grande italiano Professor SILVESTRI.

"No laboratório de COSTA-LIMA só se trabalhava e conversas sobre assuntos não científicos eram logo interrompidas e deixadas para a mesa do almoço ou do jantar, pois naqueles primeiros decênios do Instituto poucos eram os que nele não pernoitavam ou, ao menos, que só voltavam para casa ou para a cidade às últimas horas da noite".

Durante vários anos, em qualquer país, não se poderia desejar mais completo e competente grupo de especialistas nos diversos sectores da entomologia médica, do que o reunido no Instituto Oswaldo Cruz. Além de LUTZ (que em breve, quase cego, se invalidaria para a pesquisa, logo depois desaparecendo) e de COSTA-LIMA, em pleno vigor, lá estavam CESAR FERREIRA PINTO, GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO, CHARLES R. HATHAWAY, FÁBIO LEONI WERNECK, OCTAVIO MANGABEIRA FILHO e HERMAN LENT, todos eles especialistas formados em Manguinhos sem terem tido a oportunidade de contactos com mestres estrangeiros. Somente um, HUGO SOUZA-LOPES, fora discípulo do grande entomologista alemão radicado no Brasil há muitos anos e ao qual acima nos referimos, Frei THOMAS BORGMEIER. Só muitos anos depois, quando já contava meio século de existência, veio o Instituto a ter em seu corpo técnico um zoólogo e competente entomologista formado na Alemanha, RUDOLF BARTH, discípulo em Bonn de REICHENSPERGER e especialista consumado em anatomia, histologia e embriologia de insectos. Este por sua vez, em DYRCE LACOMBE, formou uma discípula que, pelos trabalhos publicados sobre esses temas gerais de entomologia, se revela digna do mestre.

CESAR FERREIRA PINTO, a princípio sob nossa orientação, preparara sobre gregarinas a tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Em seguida, sob a influência de ARTHUR NEIVA, passou ao estudo das sanguessugas ou hirudíneos, publicando a respeito uma monografia que abrange as espécies do mundo inteiro. Discípulo de NEIVA, mas também muito tendo aprendido com LUTZ e com COSTA-LIMA, foi CESAR PINTO sobretudo um especialista em entomologia médica, tendo deixado trabalhos de valor sobre cimicídeos, triatomíneos, sifonápteros, culicíneos e muscídeos. Excelente expositor, publicou vários livros, todos eles redigidos com uma grande clareza e, em geral, bem ilustrados, o que os torna de muita utilidade didáctica. O melhor deles é sem dúvida o intitulado *Arthropodos parasitos e transmissores de doenças*, publicado em 1930, mas que ainda hoje é consultado com proveito. A versatilidade de espírito de CESAR PINTO, a qual foi aumentando com o tempo (seu último livro foi sobre a história da música no Brasil!), entretanto, não lhe permitia fixar-se mais demoradamente no estudo dum mesmo assunto, do que resultaram certas falhas graves em alguns de seus trabalhos de pesquisa. Nos últimos anos de vida esse estado mental se agravou levando à interrupção completa de sua actividade científica.

GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO, em assuntos de biologia é, se pode dizer, um enciclopédico. Botânico, entomologista, microbiologista e ecologista, OLIVEIRA-CASTRO vem deixando traços de sua passagem por todos êsses domínios. São múltiplas e valiosas as contribuições que trouxe à sistemática e à bionomia dos culicídeos, principalmente no que se refere à transmissão da malária humana. Seus estudos de ecologia, sob esse ponto de vista tendo sido muito proveitosos. Em colaboração com ADOLPHO LUTZ descreveu várias espécies de taba-

(*) Uma contribuição para o livro de PEDRO BLOCH, *Vida e obra de Ângelo Moreira da Costa Lima*. Rio de Janeiro, Conselho Nacional de Pesquisas, 1968, página 90.

nídeos ou mutucas de nossa fauna. Os trabalhos que publicou sobre a febre maculosa e as rickéttsias que a produzem, sobre o bacilo da lepra e sobre um novo método de coloração para protozoários, mostram quão amplo é o campo abrangido pelas pesquisas de OLIVEIRA-CASTRO. Seus estudos sobre ecologia são analisados em outra parte do presente trabalho.

Ao lado de COSTA-LIMA, como um de seus discípulos mais assíduos, infelizmente muito cedo desaparecido, trabalhava um jovem especialista em sifonápteros, CHARLES R. HATHAWAY, autor com COSTA-LIMA do grande catálogo das pulgas do mundo inteiro, em que estão enumeradas, com indicações bibliográficas precisas e dados exactos sobre os animais parasitados e a distribuição geográfica, as muitas centenas de espécies desses insectos. Como é sabido, mais de cem dessas espécies de pulgas têm sido encontradas em murídeos, ratos domésticos ou selvagens, actual ou potencialmente podendo representar um papel na transmissão da peste, do tifo endêmico e de outras doenças do Homem e de outros animais.

Também cedo desaparecido, OCTAVIO MANGABEIRA FILHO, discípulo de LAURO TRAVASSOS mas que também tivera orientação de COSTA-LIMA, especializou-se no estudo dos flebotomíneos sobre os quais deixou trabalhos de valor, com a descrição de muitas espécies novas, dentre as quais as frequentadoras dos buracos de tatus. Essa particularidade e a circunstância de que hoje se conhecem formas de leishmânias em animais selvagens, particularmente em roedores, bem como o facto de serem os tatus hospedadores habituais do *Schizotrypanum Cruzi*, protozoário tão afim das leishmânias, conduzem o parasitologista geral a especulações sobre a possível correlação, ao menos filogenética, entre todos esses factos.

Também em Manguinhos, com COSTA-LIMA, formou sua especialização entomológica e por vários decênios trabalhou, FÁBIO LEONI WERNECK que, com paciência e perseverança beneditinas, se dedicou de modo exclusivo ao estudo dos anopluros e dos malófagos, piolhos sugadores e mastigadores, os primeiros só de mamais, os segundos de aves e mamais. Nessa matéria, tornou-se WERNECK autoridade internacionalmente respeitada.

Em relação aos triatomíneos ou "barbeiros", ARTHUR NEIVA abrira o caminho e, ao desaparecer, deixou iniciados e encaminhados no conhecimento desse grupo de hematófagos e nos seus afins não sugadores de sangue, CESAR PINTO e HERMAN LENT. O primeiro propôs uma nova classificação do grupo hoje em parte aceita por vários autores, além de nele ter descrito algumas espécies novas. HERMAN LENT se iniciou na parasitologia com LAURO TRAVASSOS, tendo a princípio dirigido suas pesquisas para a helmintologia e descrevendo algumas espécies novas de certos grupos de nematódios. Mais tarde, sob a influência e a orientação de NEIVA, passou a ocupar-se do estudo dos triatomíneos em cuja sistemática tornou-se competente. Há vinte anos vinha preparando uma monografia dos "barbeiros", a qual, todavia, até hoje não foi publicada.

Embora nunca tendo feito parte do quadro técnico do Instituto Oswaldo Cruz e mesmo só ocasionalmente o visitando, exerceu grande influência na formação de vários de seus técnicos uma personalidade notável a que já nos referimos, o ilustre franciscano, biologista e entomologista da mais alta reputação nos meios internacionais, que fez praticamente toda a sua carreira científica no Brasil, Frei THOMAS BORGMEIER. Um de seus discípulos veio a trabalhar por muitos anos em Manguinhos. É HUGO SOUZA-LOPES, autoridade reconhecida em tudo o que se refere aos dípteros muscoídeos, o difícil grupo sobre o qual, em sua residência do interior de São Paulo, completou C. H. T. TOWSEND o seu grande tratado de Myiologia, que publicou em quinze volumes.

No terreno da entomologia médica não se pode omitir o concurso prestado por técnicos do Instituto Oswaldo Cruz, principalmente GUSTAVO MENDES DE OLIVEIRA-CASTRO, CESAR PINTO e outros, na campanha de erradicação do *Anopheles gambiae*, importado da costa ocidental da África para o Nordeste do Brasil pelos *avisos* ou rápidos navios que, antes de haver travessia aérea do Atlântico, faziam a ligação entre Dacar e Natal. Como é sabido, essa importação deu em resultado uma mortífera epidemia de malária que deixou dezenas de milhares de vítimas, uma vez que o *A. gambiae*, de hábitos semi-domésticos e adquirindo a infecção pelos plasmódios sempre que se alimenta com o sangue de indivíduo infectado, o que não ocorre com outros anofelinos transmissores, é o mais importante e o mais perigoso vector da doença. O mesmo concurso foi prestado às diferentes campanhas de combate à febre amarela e ao transmissor da forma urbana dessa doença, o *Stegomyia aegypti*, que acabou por ser erradicado do território nacional. Foram esses, dois extraordinários feitos, não só de higiene e medicina preventiva, como de luta biológica, conseguindo-se em vastas regiões eliminar completamente duas espécies. Em ambos os casos, a direcção administrativa das campanhas e sua organização couberam à Fundação Rockefeller em cooperação com o governo federal do Brasil.

Desgraçadamente, no que se refere à erradicação do *Stegomyia aegypti*, foram perdidos o gigantesco esforço dispendido e as vultosíssimas somas empregadas, estas estimadas entre 300 e 400 milhões de dólares. Reimportado para o norte do Brasil o *Stegomyia aegypti*, veio ele avançando para o sul, pela estrada Belém-Brasília e na costa até o Maranhão e, possivelmente, mais ao sul. Esse desastre se deve ao facto de que persistem focos na região do Caribe onde o perigoso mosquito tem sido combatido, em quase toda a parte erradicado, mas reintroduzido dos focos permanentes que existem em larga escala no vale do Mississipi, focos esses que as autoridades sanitárias e governamentais dos Estados Unidos não se preocupam em extinguir.

Mantém o Instituto Oswaldo Cruz vultosas colecções entomológicas que devem incluir não muito menos de um milhão de espécimens, ocupando cerca de cinco mil e quinhentas gavetas. Nesse acervo estão compreendidas as colecções jacentes de ADOLPHO LUTZ, de COSTA-LIMA, de OCTAVIO MANGABEIRA FILHO e de outros pesquisadores. Graças à generosidade do médico, entomologista e mecenas brasileiro CARLOS ALBERTO CAMPOS SEABRA e a um auxílio, para a época vultoso, do Conselho Nacional de Pesquisas, se pôde evitar que fosse finalmente levada para o estrangeiro a colecção ZIKAN, reunida na região do Itatiaia, mas compreendendo inúmeros exemplares das mais diversas proveniências, inclusive muitos exemplares-tipo de espécies descritas por diferentes autores. Essa colecção, que inclui cerca de 700 mil exemplares, é uma das mais importantes de insectos brasileiros e foi adquirida para Manguinhos durante a gestão da directoria de 1949 a 1953. Outra colecção importante do Instituto é a de lepidópteros que LAURO TRAVASSOS reuniu em um trabalho persistente de mais de trinta anos, executado simultaneamente com suas funções de direcção dos estudos helmintológicos de Manguinhos.

ACAROLOGIA

Também a acarologia teve em Manguinhos ilustres cultores. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, além de notável protozoologista, foi o primeiro a se dedicar no Brasil ao estudo sistemático dos ixodídeos ou carrapatos, domínio em que se tornou autoridade internacionalmente reconhecida. Sob sua orientação, saiu dos laboratórios do Instituto uma tese de doutoramento que durante muitos anos foi clássica, apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1909, e da autoria de CARLOS ROHR.

Foi ainda em Manguinhos que fez sua formação técnica e científica FLÁVIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA, que mais tarde em São Paulo, no Instituto Butantã e na Escola Paulista de Medicina, onde foi professor catedrático de parasitologia, se veio a tornar um dos especialistas em acarologia de maior reputação internacional, seu nome tendo sido dado a vários gêneros (*Fonsecia, Fonsecaonyssus*) e espécies de ácaros por diversos autores europeus e americanos.

Da autoria de COSTA-LIMA, merece referência o estudo feito sobre o *Sarcoptes scabiei* var. *crustosae*, parasito encontrado no primeiro caso assinalado no Rio de Janeiro de sarna norueguesa ou sarna crostosa, por AMILCAR FERREIRA DA ROSA e pelo autor do presente ensaio. O trabalho de COSTA-LIMA é sem dúvida um dos melhores que constam da literatura sobre o assunto.

ARACNOLOGIA
O PROBLEMA DO ESCORPIONIDISMO NO BRASIL

Contou o Brasil em CANDIDO DE MELLO LEITÃO, um dos maiores especialistas contemporâneos em aracnologia, o qual estendeu suas pesquisas também aos escorpiões. Mas, embora tendo contactos ocasionais com o Instituto Oswaldo Cruz, não foi em Manguinhos que se fez especialista nem lá exerceu sua actividade de notável zoólogo e conspícuo aracnólogo. Toda sua carreira se fez no Museu Nacional do Rio de Janeiro e na Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, que hoje constitui a Universidade Rural. Não poderíamos, porém, aqui falar em pesquisas aracnológicas sem mencionar o nome de MELLO LEITÃO e sem reverenciar sua memória.

Não é de desprezar o problema do escorpionidismo no Brasil, uma vez que, em nosso País, OCTAVIO DE MAGALHÃES, no Instituto Ezequiel Dias, então filial do Instituto Oswaldo Cruz, calculou em mais de seis mil por ano o número de acidentes de envenenamento por picada de escorpiões, com um total muito superior a duzentos casos fatais, estes sobrevindo particularmente em crianças de menos de 10 anos, em velhos e em pessoas debilitadas por diversas condições mórbidas.

Não foi em Manguinhos que se obteve pela primeira vez um soro contra a peçonha dos escorpiões. Esse mérito coube ao Instituto Butantã, onde, em 1915, HEITOR MAURANO, sob a orientação de VITAL BRAZIL, conseguiu um soro de baixo teor antitóxico. Nos dois anos subsequentes um soro mais activo foi preparado em Butantã e, também, por EURICO VILLELA no Instituto Ezequiel Dias, de Belo Horizonte. Nesta última instituição, até 1923 se tinham recebido, para estudo e fornecimento da peçonha destinada à preparação de soro, cerca de 120 mil exemplares de escorpiões da espécie *Tityus serrulatus*, além de numerosos outros da espécie *Tityus bahiensis*.

Os outros trabalhos de EURICO VILLELA e de OCTAVIO DE MAGALHÃES culminaram em uma campanha contra os escorpiões extremamente abundantes em Belo Horizonte e em outras localidades do Estado de Minas Gerais e outros Estados do Brasil, empregando-se na destruição desses aracnídeos os inseticidas de acção residual.

OS ANIMAIS VENENOSOS E PEÇONHENTOS

Existindo no País uma instituição especialmente organizada, fundada pelo eminente chefe de escola que foi VITAL BRAZIL, para o estudo dos venenos de origem animal e particularmente dos ofídios, o famoso Instituto Butantã, de São Paulo, que depois se transformou em uma ampla organização de pesquisas médicas e biológicas, não julgou OSWALDO CRUZ conveniente desenvolver em Manguinhos investigações sobre esse assunto. Entretanto, circunstâncias supervenientes fizeram com que alguns tópicos dessa matéria fossem lá abordados.

Assim é que, como em outro ponto deste relato é assinalado, a frequência de acidentes por picada de escorpiões, levou vários técnicos da então filial do Instituto Oswaldo Cruz, o Instituto Ezequiel Dias, de Belo Horizonte, a se ocuparem daqueles artrópodos peçonhentos e daí partirem dois deles, OCTAVIO DE MAGALHÃES e OSWALDO DE MELLO, para o das serpentes, sobre as quais publicaram vários trabalhos.

A extinção, em 1915, da Estação de Biologia Marinha, mantida na Praia Vermelha pelo Ministério da Agricutura, e a transferência de parte do pessoal e do material respectivos para Manguinhos, onde foram continuados os seus trabalhos de pesquisa científica, ofereceram oportunidades para que, sob a orientação inicial de JOSÉ GOMES DE FARIA, nos dedicássemos de 1916 a 1920, no Rio de Janeiro e na Bahia, ao estudo dos peixes venenosos e peçonhentos. Dentre os peixes peçonhentos que pesquisamos estavam os mangangás (*Scorpaena*) do Rio de Janeiro e os niquins (*Thallassophryne*) da Bahia, e dentre os venenosos os baiacus lisos (*Lagocephalus* e *Sphaeroides*) e os baiacus de espinhos (*Diodon, Chilomycterus*). Mais tarde na Amazônia pudemos fazer investigações sobre o pequeno mamaiacu de água doce lá existente, o *Colomesus psittacus*.

BIOLOGIA MARINHA

É de conhecimento geral que, além dos aspectos próprios, científicos e econômicos, sem falar nos militares, que apresentam, relativos uns à pesca, outros ao conhecimento das correntes marítimas e a outras questões da física dos mares, a biologia marinha, e a hidrobiologia, de um modo amplo, oferecem um valioso concurso à investigação de problemas gerais de biologia. A frequência dos fisiologistas, dos bioquímicos, dos geneticistas e de outros biólogos às estações de biologia marinha de Banyuls e de Roscoff, na França, de Woods Hole, nos Estados Unidos, do "Hydrobiologisches Anstalt" de Ploen, na Alemanha, ou da Estação Zoológica do Golfo de Nápoles, bem demonstra a

importância que esse gênero de instituições tem para a investigação de muitos problemas fundamentais de biologia. Com tais problemas estão também por vezes relacionadas relevantes questões de ordem médica. Basta lembrar que a anafilaxia foi descoberta por CHARLES RICHET e PORTIER estudando as substâncias tóxicas produzidas por animais marinhos, actínias, fisálias, mexilhões, a bordo do navio oceanográfico "Princesa Alice" do Instituto Oceanográfico de Mônaco, e que a fagocitose foi pela primeira vez observada por ELIAS METCHNIKOFF, ao investigar equinodermas conhecidos como "estrelas do mar" e os minúsculos crustáceos de água doce do gênero *Daphnia*.

No Brasil, a mais antiga Estação de Biologia Marinha é a que hoje constitui a Secção de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz. De facto, para este último foram transferidos, o acervo e o pessoal da Estação de Biologia Marinha fundada por volta de 1912 pelo Ministério da Agricultura e extinta em 1915, por não ter sido incluída no orçamento federal a verba necessária à sua manutenção. A Estação estava localizada no Rio de Janeiro, na Praia Vermelha, entre a enseada de Botafogo e a restinga que então a separava do oceano.

Uma unidade da Marinha de Guerra, o Cruzador Auxiliar "José Bonifácio", durante anos e sob as ordens do Comandante AUGUSTO SCHORCHT, depois transferido para a Força Aérea Brasileira em que atingiu o generalato, prestava à Estação os serviços próprios de um navio oceanográfico.

Com os recursos de que então se dispunha, eram muitas e prolongadas as excursões marítimas que se realizavam. Mesmo depois de transferida a Estação para o Instituto Oswaldo Cruz, quando já dispúnhamos apenas de um poveiro de oito metros ao qual, além da vela, se adaptara um motor a gasolina, as excursões continuaram, não só no interior da baía de Guanabara, mas frequentemente em alto mar durante dias seguidos. Uma das áreas marítimas exploradas nessa época pelos técnicos do Instituto foi a da Ilha Grande e, em particular, a reentrância lá existente conhecida pelo nome de Enseada de Abraão. Daí muito material e muitos dados científicos se colheram.

Na Estação da Praia Vermelha, ao lado do ilustre ictiólogo do Museu Nacional, ALÍPIO DE MIRANDA RIBEIRO, trabalhava o não menos notável biologista de Manguinhos, JOSÉ GOMES DE FARIA. A este vieram associar-se, nas pesquisas que realizava, dois outros pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz, ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e o autor do presente ensaio. Depois de iniciados esses estudos no Brasil, sob a orientação de STANISLAS VON PROWAZEK, dessa época, entre 1913 e 1918, datam os trabalhos publicados pelos três últimos técnicos mencionados, sobre o plancton das costas sul-americanas do Atlântico, desde o litoral de Pernambuco até Mar del Plata, na República Argentina. Nesses trabalhos se contêm as primeiras informações sistematicamente colhidas em águas brasileiras e fronteiriças sobre o plancton, elemento básico do qual em última análise dependem quase todas as riquezas (só as algas fazem excepção) que o oceano é capaz de proporcionar como recursos alimentares. Sobre sua importância econômica, numa síntese imaginosa, L. JOUBIN escreveu que o plancton microscópico vegetal, base primordial da alimentação dos animais marinhos, constitui uma gigantesca campina flutuante, pastagem permanente de uma multidão de herbívoros que, por sua vez, nos oceanos, são a presa e o alimento dos carnívoros que lá habitam: depende do plancton quase tudo que existe de vivo nos mares.

Mas, sob outros pontos de vista são importantes os estudos sobre o plancton. Da Estação de Biologia Marinha da Praia Vermelha, saiu o notável trabalho de GOMES DE FARIA sobre o plancton monótono ("água do monte", dos pescadores) por *Glenoidineum trochoideum*, causando mortandade de peixes na baía do Rio de Janeiro, trabalho apresentado à Faculdade Nacional de Medicina como tese de concurso à docência-livre da cátedra de História Natural Médica, então existente.

Ainda, na Estação de Biologia Marinha da Praia Vermelha, entre 1913 e 1916, GOMES DE FARIA procedeu à criação de ostras comestíveis, a primeira tentativa nesse sentido no Brasil e, possivelmente, na América Latina. Com o fechamento da Estação e a transferência de seu acervo para Manguinhos, lá ficaram, abandonadas na Praia Vermelha, as ostreiras onde os moluscos continuavam sua lenta evolução de vários anos.

Já em Manguinhos, de 1916 a 1919, a Estação de Biologia Marinha proporcionou condições para os nossos estudos sobre peixes venenosos e peçonhentos das costas brasileiras.

Apesar e depois de toda essa actividade, a Estação de Biologia Marinha de Manguinhos, esteve por vários anos abandonada. Foi o director HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, quem, compreendendo sua importância e o alcance biológico geral dos estudos que lá se realizavam, a fez renascer, instalando-a satisfactoriamente numa ilha fronteira ao Instituto, a ilha do Pinheiro, onde até hoje continua a funcionar, transformada para efeitos administrativos em Secção de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz. ARAGÃO e o seu sucessor na direcção do Instituto Oswaldo Cruz sempre procuraram dotar a Estação de Hidrobiologia dos

necessários recursos e meios de trabalho, inclusive de embarcações capazes de enfrentar o mar alto.

No intuito de introduzir novas técnicas, o director ARAGÃO fez vir a Manguinhos, para uma longa permanência, o professor PIERRE DRACH, da Faculdade de Ciências da Universidade de Paris e do Instituto Oceanográfico da mesma cidade e director do Laboratório Arago, na Estação Marítima de Banyuls. Especializado no estudo da biologia dos fundos marinhos, o professor DRACH aqui introduziu o emprego da aparelhagem moderna que permite aos mergulhadores atingirem profundidades superiores a 50 metros, vários técnicos do Instituto se tendo adestrado nesse gênero de exploração submarina.

Com o mesmo objectivo, ao sucedermos na direcção do Instituto a HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, promovemos a vinda à Estação de Biologia Marinha de Manguinhos do eminente especialista islandês ARNI FRIEDRIKSON, membro da Comissão Internacional dos Recursos do Mar, na época director dos estudos de biologia marinha da Islândia, ora chefiando os mesmos serviços na Dinamarca, e cujo nome poucos anos depois foi dado a um dos mais modernos navios oceanográficos do mundo.

Durante nossa gestão na direcção de Manguinhos, pensamos ainda em ampliar a Estação de Biologia Marinha e constituí-la numa atracção científica e turística internacional que, em águas tropicais do Atlântico desempenhasse papel semelhante ao da Estação Zoológica do Golfo de Nápoles. Embora para isso não fosse a melhor localização, pareceu-nos que a ilha do Brocoió, próxima à de Paquetá, na baía de Guanabara, pudesse servir, uma vez que a instalação ali se podia fazer sem maiores despesas, existindo magnífico prédio, cercado de jardins, cais de desembarque e outras facilidades. Nesse sentido, procuramos entender-nos com as autoridades do Estado da Guanabara a quem pertence a ilha de Brocoió, e que deveria ser o maior interessado numa iniciativa dessa natureza. Entretanto, pelo Secretário de Educação de então, nos foi informado que não era possível o acordo de cooperação que propúnhamos, pois já estava decidido localizar na ilha de Brocoió uma colônia de férias para as professoras das escolas públicas do Estado. De facto, a ilha passou logo a servir para férias, mas não das professoras e, sim, de personalidade que a consulta aos jornais da época permitirá identificar.

O curso de hidrobiologia por nós instituído e ministrado por LEJEUNE DE OLIVEIRA, teve um sucesso muito superior ao que se esperava, havendo sido completado em anos sucessivos por 74 alunos que hoje ocupam postos de responsabilidade ligados à hidrobiologia, na Sursan e no Instituto de Engenharia Sanitária, organizações estaduais do Rio de Janeiro, e no Departamento Federal de Endemias Rurais.

Infelizmente, esse apoio e esse incentivo não foram dados à Secção de Hidrobiologia de Manguinhos por outras directorias que se seguiram à nossa. As duas lanchas que possuía, uma importada da Inglaterra pelo director HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e à qual demos o nome desse eminente homem de ciência, *Henrique Aragão*, e a outra, a *Marques da Cunha*, que nós mesmo fizemos construir em um dos estaleiros de Niterói e que hoje, se recuperada, está avaliada em centenas de milhares de cruzeiros, foram objecto de sabotagem e estão abandonadas. Na Estação de Hidrobiologia do Instituto só existe actualmente uma pequena lancha, a *Euglena*, que não aguenta o alto mar, por isso mesmo cedida a Manguinhos pela Inspectoria de Saúde dos Portos e que só pode navegar no interior da baía de Guanabara e, assim mesmo, quando e se for regularizada a situação dos seus tripulantes junto à Capitania dos Portos.

O responsável pelo expediente, que nos substituiu durante alguns meses na direcção do Instituto, quando dela pedimos demissão, na presidência de GETÚLIO VARGAS, chegou ao extremo de determinar a interrupção do curso de hidrobiologia que estava em pleno andamento, e fez assim dispersar os alunos que, de uma hora para outra, se viram privados de continuar seus estudos da especialidade.

Enfim, a Secção de Hidrobiologia tem conseguido apenas sobreviver, e isso graças ao amor à ciência e à dedicação dos poucos pesquisadores que lá trabalham.

Destes, o chefe é LEJEUNE PACHECO HENRIQUES DE OLIVEIRA, grande conhecedor de todos os aspectos da biologia marinha e do funcionamento de uma estação dessa especialidade. Tem ele em LUÍZA KRAU uma competente e dedicada colaboradora.

Em uma actividade de mais de trinta anos, LEJEUNE DE OLIVEIRA tem feito muitas publicações de vulto sobre a fauna brasileira de copépodos, grupo difícil de trabalhar e que entra como componente importante do plancton; sobre isópodos e crustáceos decápodos; sobre as associações biológicas no *mangrove* (o mangue, a que Manguinhos deve seu nome), além do levantamento biogeográfico da baía de Guanabara, trabalho realizado com a colaboração de LUÍZA KRAU. São muitos e valiosos os estudos que LEJEUNE DE OLIVEIRA tem feito sobre a poluição das nossas lagoas litorâneas (a Lagoa Rodrigo de Freitas especialmente, mas também a de Sepetiba, ora gravemente ameaçada). O efeito

dessa poluição na destruição da fauna marítima tem reflexos importantes no abastecimento em pescado da cidade do Rio de Janeiro. Esse foi mesmo o motivo pelo qual tais estudos puderam ser executados: os da Lagoa Rodrigo de Freitas foram custeados pelo Departamento de Veterinária e pelo Departamento de Lagoas da antiga Prefeitura hoje Estado da Guanabara; os da lagoa de Sepetiba o foram num plano de cooperação entre a Sudepe, que proporcionou facilidades de transporte, e o Instituto Oswaldo Cruz, que concorreu com a assistência técnica.

Outros técnicos do Instituto, químicos e fisiologistas, em tempo aproveitaram as facilidades proporcionadas pela Estação de Biologia Marinha da ilha do Pinheiro, para a realização de pesquisas no campo de suas especialidades. Mais tarde, tal cooperação se tornou impossível pela falta de recursos, principalmente pela falta de embarcações e do pessoal marítimo necessário para tripulá-las.

Por fim, quando as autoridades navais brasileiras se voltaram para a investigação científica, foi no Instituto Oswaldo Cruz que vieram buscar, na década de 1920, equipamento, e na de 1960 pessoal técnico, êste nas pessoas de RUDOLF BARTH, e de sua discípula DYRCE LACOMBE, que chegaram a fazer parte do corpo científico do Instituto de Pesquisas da Marinha, onde foram encarregados dos estudos de biologia.

Não devemos passar em silêncio também a visita que fez ao Brasil em 1926, o navio oceanográfico alemão "Meteor", que realizou em várias travessias sucessivas entre o Brasil e a África, a sondagem acústica, então novidade técnica, de todo o Atlântico Sul. Essa visita proporcionou a vários pesquisadores de Manguinhos, entre os quais GUSTAVO HASSELMANN e nós, tomarem conhecimento de muitos métodos de trabalho em biologia marinha.

Assinalaremos também que a um técnico de Manguinhos, JOSÉ GOMES DE FARIA, foi dirigido um honroso convite, que por motivos vários não pôde ser aceito, para tomar parte na segunda expedição de CHARCOT ao Polo Sul. Perdeu assim o Brasil uma oportunidade de dar naquela época um passo para manifestar seu interesse pelos vastos territórios até então não ocupados da Antárctida.

QUÍMICA ORGÂNICA

Na organização da pesquisa científica no Brasil, um ponto fraco é sem dúvida a química. Essa deficiência muito bem poderia ter sido evitada num país que nos primórdios de sua vida independente contava já alguns químicos competentes, como o português BERNARDINO ANTONIO GOMES, o primeiro a isolar (antes de PELLETIER e CAVENTOU) um dos alcalóides das quinas, a "cinchonina", e o brasileiro EZEQUIEL CORREIA DOS SANTOS, que isolou do pau-pereira a "pereirina". Mas, a partir da segunda metade do século passado, começou o declínio e durante cem anos, se houve alguns bons professores da matéria, raros foram os químicos cujos nomes tenham sido conservados através de trabalhos de valor. Também, até o segundo decênio do século actual, o ensino da química no Brasil se tinha orientado para a química mineral e para a química analítica, e isso por motivo da pesquisa e do desenvolvimento das jazidas de minérios e da respectiva exportação.

Esse facto foi bem compreendido por alguns dos directores, não todos, do Instituto Oswaldo Cruz, que procuraram dar início a uma escola de químicos brasileiros dignos do renome de Manguinhos. Assim, OSWALDO CRUZ fez partir para a Alemanha ALCIDES GODOY, que lá trabalhou sob a direcção de OSTWALD que, na época, com NERNST, era a mais representativa personalidade nos domínios da química geral, o que hoje se denomina físico-química ou química física. Assumindo, por morte de OSWALDO CRUZ, a direcção de Manguinhos, um dos primeiros cuidados de CARLOS CHAGAS foi o de atrair para o Instituto um grande especialista, JOSÉ CARNEIRO FELIPPE, formado na famosa e tradicional Escola de Minas de Ouro Preto e cuja vasta cultura científica e alta competência na especialidade faziam-no indicado para tornar-se um verdadeiro chefe de escola.

Foi ainda CARLOS CHAGAS quem teve a iniciativa de criar o Serviço de Medicamentos Oficiais e de Quinino do Estado, retomando no Brasil o programa que, com bastante sucesso, se levava a cabo na Itália. Esse serviço ficou a cargo de CARNEIRO FELIPPE, mas no fim de algum tempo, com as modificações sofridas pela política sanitária adoptada pelas autoridades brasileiras, foi abandonado.

Entretanto, a ALCIDES GODOY, com sua viva mas inquieta e dispersiva inteligência, faltou a continuidade no trabalho programado. E a CARNEIRO FELIPPE, pela sua competência muito solicitada em diferentes direcções, faltaram o tempo necessário e uma indispensável organização que pudesse ser-

vir-lhe de apoio e fazer funcionar a contento um grande laboratório de química.

Também CHAGAS enviou à Alemanha um dos melhores técnicos de Manguinhos, NICANOR BOTAFOGO-GONÇALVES, doutor em Medicina e docente de química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, formado no curso de Química Industrial da antiga Escola Politécnica, hoje Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Na Alemanha, durante dois anos, BOTAFOGO-GONÇALVES seguiu o curso de química orgânica do Conselheiro Privado Professor HERMANN THOMS, director do Instituto de Química Farmacêutica da Universidade de Berlim, e o do Professor C. MANNICH, trabalhando assiduamente nos laboratórios desses eminentes especialistas. Voltando BOTAFOGO-GONÇALVES para o Brasil, CHAGAS contratou o Dr. FRITZ UNGER, assistente e chefe de trabalhos práticos daquele Instituto, o qual permaneceu em Manguinhos durante um ano. Infelizmente não foi possível melhor aproveitar a capacidade desse excelente químico, na formação de novos especialistas, como era intenção de CHAGAS. É que ainda entre nós estava naquela época embrionária a indústria química e farmacêutica em nosso País, não sendo possivel atrair, adestrar e reter maior número de técnicos que não teriam oportunidade de carreira. Para os químicos, no ensino superior, eram então também limitados os horizontes e perspectivas.

Durante poucos anos, nos laboratórios de química orgânica de Manguinhos, trabalhou sobre a composição do óleo de chalmugra o químico americano Dr. HOWARD IRVING COLE. Durante a segunda guerra mundial, fomos encontrá-lo em Washington, D.C., como oficial superior do Exército Americano, na qualidade de perito em gases tóxicos e asfixiantes, de que tinha, aliás, experiência pessoal, por ter sido "gaseado" na primeira grande guerra.

Nos laboratórios de química orgânica do Instituto, HUMBERTO CARDOSO, competente químico e grande conhecedor do equipamento físico-químico moderno, trabalhou sobre os óleos de peixes e, durante a segunda guerra mundial, superintendeu a instalação em Manguinhos de uma usina-piloto de plasma seco, quando a directoria do Instituto se preparava, na previsão de se ter que conseguir esse produto para fornecê-lo às nossas Forças Armadas.

Conta actualmente o Instituto Oswaldo Cruz com um competente especialista de macromoléculas, antigo chefe do Laboratório de Borracha, no famoso Jardim Botânico de Buitenzorg, hoje Bogor, em Java, e antigo chefe do Sector de Química do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, o Dr. REINOUT FERDINAND ALEXANDER ALTMAN.

Em uma época um tanto mais favorável, a direcção de Manguinhos, de 1949 a 1953, encarregou BOTAFOGO-GONÇALVES de chefiar a Divisão de Química (já então estava CARNEIRO FELIPPE afastado do Instituto por motivos de saúde) e de lá leccionar o curso de química orgânica, com o mesmo programa do que fizera em Berlim, incluindo todos os exercícios práticos lá realizados de síntese e de análise elementar. Nesse curso, HUMBERTO CARDOSO passou a leccionar a parte referente a "Métodos físicos e químicos aplicados à química orgânica".

Nessa ocasião, foi o Instituto dotado da primeira instalação para análise elementar que funcionou no Brasil. O curso de química orgânica era de dois anos e nele se formaram vários químicos que foram trabalhar na Universidade de São Paulo, no Conselho Nacional de Petróleo e em outras organizações. Nenhum, porém, por falta de recursos financeiros do Instituto, e, também, por falta de interesse das administrações que se sucederam a partir de 1953, chegou a ser nele aproveitado. Assim, mais uma vez, se perdeu a oportunidade de lá se criar uma escola de química orgânica.

Pela sua aplicação médica mais imediata, a bioquímica foi mais feliz e sempre contou com o apoio dos administradores, podendo destarte manter continuidade de trabalho, de que não dispôs a química orgânica, apesar de ser esta, em última instância, que lhe serve de base mais segura.

BIOQUÍMICA

A antiga Secção de Bioquímica, que, quando esse pesquisador não estava na chefia da Divisão de Química, era dirigida por GILBERTO GUIMARÃES VILLELA, nos últimos tempos reverteu à anterior e tradicional situação de laboratório isolado, subordinado àquela Divisão. Entretanto, trabalhando em assuntos correlatos, alguns de seus técnicos, LUÍS AUGUSTO ABREU, ora dirigindo a Divisão, EMÍLIO MITTIDIERI, LUÍS PAULO RIBEIRO, OTTILIA RODRIGUES AFFONSO, REGINA RAPOSO ABREU, como que constituem um grupo de trabalho não oficial. Independentemente desse grupo, mas não raro

fazendo algumas publicações com a colaboração de seus membros, realizam suas pesquisas em campos diferentes PEDRO FONTANA JÚNIOR, HÉLION PÓVOA FILHO e MARIA ISABEL DE MELLO, esta lamentavelmente afastada no momento do Instituto e prestando serviços em outro sector do Ministério da Saúde.

Nos laboratórios bem equipados de que dispõe o Instituto, GILBERTO GUIMARÃES VILLELA, que dirigiu a Divisão, tendo sucedido a CARNEIRO FELIPPE e a NICANOR BOTAFOGO-GONÇALVES, realizou muitos estudos e fez cerca de duas centenas de publicações, sobre numerosos assuntos, entre os quais padronização de técnicas para análise bioquímica do sangue e para a dosagem microbiológica das vitaminas, tendo, além disso, publicado vários livros.

GILBERTO VILLELA, EMÍLIO MITTIDIERI e OTTILIA RODRIGUES AFFONSO estudaram a xantino-oxidase e a xantino-desidrogenase, verificando que aquela é liberada do seu complexo lipo-proteico no fígado e no sangue dos animais intoxicados pelo tetra-cloreto de carbono. Também verificaram que o enzima está localizado na fracção proteica solúvel da célula hepática, sendo que o núcleo, os mitocôndrios e os microssomas não têm qualquer actividade quanto à xantino-oxidase. Além de outros trabalhos sobre electroforese, LUÍS CARLOS RIBEIRO, em colaboração com vários de seus colegas da Divisão, realizou pesquisas sobre glico- e mucoproteínas e sobre a padronização dos métodos de estudo electroforético da xantino-oxidase. O mesmo grupo de pesquisadores se ocupou de outros aspectos da acção da xantino-oxidase e da quinino-oxidase (N_1-metilnicotinamino-oxidase).

Somente os especialistas nesses diversos assuntos poderão apreciar devidamente os trabalhos acima referidos, não podendo nós julgar de seus méritos e originalidade.

PEDRO FONTANA JUNIOR, em um trabalho que, nos *Chemical Abstracts*, foi considerado um dos mais completos até então elaborados, fez uma revisão dos conhecimentos sobre o método de Kjeldahl. Outros trabalhos de FONTANA incluem estudos sobre o tempo de mineralização dos diferentes anéis heterocíclicos contendo nitrogênio; o invento de um micro-aparelho para determinação do nitrogênio; estudos sobre os catalisadores mais usados no método de Kjeldahl, que despertaram o interesse de VIRTANEN, o bem conhecido prêmio Nobel de Química, cujos trabalhos sobre fixação do nitrogênio no solo são hoje clássicos.

A atenção de FONTANA voltou-se depois para o problema da bioquímica da sílica, sobre o qual fez várias publicações, em particular versando as estruturas silicosas e deposição da sílica nas folhas de *Panicum maximum*. Essas pesquisas foram, pelo bioquímico alemão THEODOR BERSIN, consideradas as primeiras em que foi sugerido um mecanismo enzimático para regular a deposição de sílica em seres vivos. No mesmo terreno, publicou FONTANA o resultado de suas investigações sobre a influência da sílica no crescimento do bacilo da tuberculose.

Relativamente à bioquímica da elastase, FONTANA publicou vários e interessantes trabalhos. Actualmente, se ocupa FONTANA com pesquisas sobre a relação entre o choque audiogênico e a bioquímica da glândula pineal, e, ainda, sobre a bioquímica da memória.

Os trabalhos de FONTANA, por seu interesse biológico geral, estão entre os que maior destaque merecem neste muito incompleto resumo das actividades do Instituto Oswaldo Cruz, no campo da bioquímica.

HÉLION PÓVOA FILHO em uma série de publicações se tem ocupado da bioquímica do sémen humano, estudando-lhe os diversos enzimas que contém, fosfatases, desidrogenase láctica, bem como os lipídios e o colesterol, este nos sémens azoospérmicos. Ocupou-se também HÉLION PÓVOA FILHO de pesquisas sobre o "clearing factor" e as hiperlipoproteinemias. Alguns desses estudos foram feitos em colaboração com A. N. CALADO e outros pesquisadores.

MARIA ISABEL DE MELLO, trabalhando a partir de certa época independentemente, realizou em Manguinhos pesquisas bioquímicas em diversos sectores, tendo dado desenvolvimento principalmente aos estudos sobre hormônios.

OSWALDO LAZZARINI PECKOLT, portador de um nome ilustrado nas pesquisas da fito-química e da fitoterapia (seu avô e seu pai foram os ilustres químicos e botânicos THEODORO e GUSTAVO PECKOLT), dedicou-se em Manguinhos ao estudo químico de várias plantas brasileiras e dos micronutrientes necessários a várias culturas e à criação do gado. Seus estudos se estenderam também aos factores curarizantes do curare e ao de plantas esternutatórias utilizadas pelos nossos indígenas.

RENATO JOSÉ PEREIRA JACCOUD, hoje professor da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, enquanto em Manguinhos, publicou trabalhos sobre a farmacologia de várias plantas brasileiras, entre as quais *Pluchea suaveolens, Cabi Paraensis, Banisteria caapi, Pseudocaryophyllus Jaccoudi, Cannabis sativa* (com OSWALDO DE ALMEIDA COSTA) e *Diclidanthera laurifolia*.

FISIOLOGIA

Num instituto de medicina experimental, não se compreende que não exista um sector de fisiologia ou, pelo menos, um grupo de pesquisadores especializados nesse ramo da biologia. Aliás, nenhuma pessoa culta ignora que, depois de JOHANNES MUELLER na Alemanha e de PIERRE MAGENDIE na França, se pode considerar que o fundador da moderna fisiologia tenha sido CLAUDE BERNARD, que em livros célebres sobre o método experimental, a ciência experimental, a medicina experimental e a patologia experimental, lançou as bases e traçou as regras da experimentação em biologia e medicina.

Não se poderia compreender, pois, que na estrutura de Manguinhos viesse a faltar a fisiologia. Se a OSWALDO CRUZ não foi dado propiciar, ao instituto que organizou, condições para que nele se desenvolvessem as pesquisas fisiológicas, isto se deve à circunstância de que em sua época, se pode dizer, não existiam no Brasil fisiologistas. Na verdade, de longa data possuíamos professores de fisiologia que conheciam os aspectos teóricos da disciplina que leccionavam e estavam a par de todos os seus mais modernos progressos, mas que não tinham a formação de experimentadores, nem a vocação de pesquisadores. O que nessa matéria até então se tinha feito no Brasil, limitava-se às tentativas de implantação dessa ciência no Museu Nacional, a exemplo do que acontecia no Museu de História Natural de Paris, o *Muséum*, onde pontificara, entre outros, o próprio CLAUDE BERNARD. No nosso Museu, JOÃO BAPTISTA DE LACERDA foi um dos vanguardeiros da experimentação fisiológica, e lá trabalhou também um jovem fisiologista francês, LOUIS COUTY, cedo desaparecido.

Já na gestão de CARLOS CHAGAS, como director de Manguinhos, a situação se modificara para melhor. ALVARO OZORIO DE ALMEIDA, experimentador formado em Paris, no laboratório de GLEY, além de ter alcançado a cátedra de fisiologia na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, montara, em sua própria residência da rua Machado de Assis, um laboratório que dentro em pouco atraía jovens interessados nos trabalhos lá realizados. O mais brilhante destes, foi sem dúvida o irmão de ALVARO, que logo se tornou seu discípulo, MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA. Convidado por CHAGAS, instalou ele em Manguinhos o laboratório que viria a ser a futura Secção de Fisiologia, a qual, após ter passado conjuntamente com a de Farmacologia a constituir uma Divisão, está hoje extinta e seus componentes dispersados, alguns deles se tendo retirado para o estrangeiro. Dessa organização fizeram parte THALES MARTINS, VIANNA DIAS, HAITY MOUSSATCHÉ, TITO ARCOVERDE DE ALBUQUERQUE CAVALCANTI, ANTONIO AUGUSTO XAVIER, FERNANDO UBATUBA e outros mais.

A fisiologia nervosa foi o objecto principal das pesquisas de MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, cujos estudos sobre cronaxia e sobre crio-epilepsia, além de outros, lhe valeram renome internacional. No mesmo sentido se orientaram seus discípulos e colaboradores.

Os trabalhos de THALES MARTINS, de um modo geral, foram executados independentemente dos realizados pelos demais fisiologistas de Manguinhos e se desenvolveram em sentido diverso. Depois de estudos sobre o *Carpotroche Brasiliensis*, planta cujo óleo se pensou em empregar como substituto do de chalmugra, no tratamento da lepra, THALES MARTINS realizou com CARNEIRO FELIPPE pesquisas sobre a oligodinamia, e passou logo às pesquisas endocrinológicas que lhe valeram reputação nos meios da especialidade em todo o mundo.

A princípio, obteve e ensaiou o hormônio intersticial do testículo, seus estudos a respeito sendo mencionados na monografia sobre testículo do grande tratado de endocrinologia de HIRSCH (1933) e nas publicações de CELESTINO DA COSTA E CHAVES, de ARON, de HEREDIA e outros.

Foi também THALES MARTINS o primeiro (a citação é de BUCKHART) a mostrar que a colchicina pode ser usada com vantagem para o estudo da actividade mitótica na próstata ventral dos ratos e camundongos castrados.

Em uma série de pesquisas sobre a regulação da hipófise e a parabiose, THALES MARTINS foi também o primeiro a demonstrar que a actividade da hipófise é regulada pelas gônadas, sendo que a recíproca já era antes conhecida. Quanto à parabiose (o termo foi criado em 1908, pelo cirurgião SAUERBRUCH), desde as experiências de PAUL BERT, em 1862, no laboratório de CLAUDE BERNARD, se sabia que as substâncias injectadas em um dos animais a ela submetidos passavam para o outro. As pesquisas sobre a parabiose realizadas por THALES MARTINS, contemporânea mas independentemente praticadas também por KALLAS, no laboratório de LIPSCHUETZ, no Chile, foram considerados por ARON e ARON como "clássicas".

Os estudos de THALES MARTINS sobre a existência de um segundo hormônio testicular, realizados em colaboração com ARNOLDO ROCHA, foram por D. R. MACCALLUM considerados "brilhantes".

Estabeleceu THALES MARTINS também a sua "teoria dos anti-hormônios", baseado na observação de que, com o tempo, o efeito sobre os animais repetidamente injectados com os extractos do lobo anterior da hipófise se vão atenuando progressivamente, o que leva a fisiologia dos hormônios a um contacto com a imunologia.

ANTONIO AUGUSTO XAVIER realizou vários trabalhos sobre respiração, frequência cardíaca na rã esfolada, acção do veneno de *Bufo paracnemis* e acção fisiológica de toxinas bacterianas.

FARMACOLOGIA E QUIMIOTERAPIA

Resultados surpreendentes e de grande alcance prático foram empiricamente conseguidos em Manguinhos, no terreno da quimioterapia com o emprego dos antimoniais no tratamento de várias doenças infectuosas e parasitárias. Devem-se essa iniciativa e o êxito espectacular que a coroou, a GASPAR VIANNA. Conhecedor das tentativas, realizadas na África, de tratamento da doença do sono pelo tártaro emético — MESNIL foi o primeiro a sugerir o seu emprego e PLIMMER e THOMAS os que antes de quaisquer outros o aplicaram — GASPAR VIANNA resolveu tentar sua utilização na terapêutica das leishmanioses que são também produzidas por tripanossomídeos. Desse modo abriu ele um novo campo à terapêutica das doenças transmissíveis, ao mesmo tempo que provocou uma radical transformação no prognóstico daquelas doenças, o qual era particularmente sombrio em relação a suas formas viscerais em que, antes do emprego do método de GASPAR VIANNA, a mortalidade atingia às vezes a 98 por cento.

Dentro em pouco, o sucesso dessa nova terapêutica, com o trabalho de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e de GASPAR VIANNA, se estendia ao granuloma venéreo, e, aberto o caminho, o tratamento das esquistossomoses foi também revolucionado, desde que MCDONAGH e CHRISTOPHERSON empregaram o tártaro emético no tratamento dessas parasitoses. Com o tempo, o tártaro emético foi sendo substituído por outros compostos de antimônio, menos tóxicos e de mais fácil manejo, principalmente por poderem ser esterilizados pelo calor, o que não acontece com as soluções do tártaro emético que o devem ser por filtração em velas Chamberland ou por adição de uma substância antisséptica volátil, no caso o éter sulfúrico.

Mas, o empirismo pode constituir um ponto de partida, mas não um método continuado de trabalho científico e, em seguida a esses excelentes resultados, que chamaram atenção para a potencial importância dos antimoniais na terapêutica das doenças infectuosas e parasitárias, houve quem no Instituto Oswaldo Cruz se lançasse a empreendimentos prematuros e extemporâneos, tentativas quimioterápicas sem o concurso indispensável de químicos, de fisiologistas e de farmacólogos, que então lá não existiam. Em tais circunstâncias, era evidente que qualquer programa, a longo prazo, redundaria em inevitável fracasso. O protótipo desse insucesso foi, no segundo decênio do século, o *protosan*, único produto divulgado dessa quimioterapia improvisada, um antimonial preconizado para o tratamento da doença de Chagas, mas cujo emprego foi logo abandonado.

Apesar dessa lição, houve quem persistisse em mal orientadas experiências com novos remédios que nada conseguiam curar. A última tentativa nesse sentido foi a do emprego de filtrados de culturas de micetos (não se os pode chamar antibióticos) no tratamento do câncer. O insucesso foi também total, para os pacientes, para o autor das malogradas tentativas e, mormente, para o Instituto, que teve malbaratados seus recursos materiais e o tempo de seus pesquisadores e auxiliares, estes desviados, desencaminhados de suas obrigações precípuas.

Acontece que, não tendo chegado a constituir em seu seio um corpo suficientemente amplo de químicos competentes, organizados em uma verdadeira escola de química orgânica, tendo dissolvida a antiga Secção de Fisiologia e dispersados seus componentes, com um número muito restrito de farmacólogos competentes, o Instituto Osvaldo Cruz não pôde no passado e hoje menos ainda pode, dar execução a qualquer programa experimental de quimioterapia.

Enquanto em Manguinhos não se tiver reunido um número de químicos suficiente que forneça aos seus fisiologistas e farmacólogos as variantes de cada grupo de substâncias a experimentar, qualquer programa de pesquisas farmacológicas não passará daquela fase de tentativas empíricas. E essa organização até agora não se conseguiu, a causa primordial do insucesso tendo sido quase sempre a incompreensão dos governantes, com a consequente falta de recursos financeiros necessários a tão produtivo empreendimento.

ECOLOGIA

Como é ou deveria ser bem sabido, pelo menos em nosso País, a ciência que em 1866 HAECKEL denominou "ecologia", hoje tão prestigiada e tão em voga no mundo inteiro, a ponto de se tornar matéria de ordem política, nasceu no Brasil, em Lagoa Santa, há pouco menos de século e meio. Lançou-lhe as bases o botânico EUGÊNIO WARMING, depois famoso, que aqui veio ter a convite de seu não menos célebre compatriota, o paleontologista PEDRO GUILHERME LUND, dinamarquês fixado naquela então longínqua e humilde, mas logo celebrizada, cidadezinha de Minas Gerais. Os princípios dessa ciência estão já firmados no livro de WARMING intitulado simplesmente *Lagoa Santa*, cuja tradução para o português devemos à benemerência de outro ilustre botânico residente no Brasil, o sueco ALBERTO LOEFGREN.

Embora nem sempre se lhe mencionasse o nome, foi a ecologia desde cedo objecto de estudos e publicações de pesquisadores de Manguinhos. Não estivesse ela tão intimamente relacionada com os fenômenos de parasitismo, com o ciclo evolutivo dos parasitos e, na verdade, com tudo o que se refere à vida. Assim, já no primeiro decênio de existência do Instituto Oswaldo Cruz, os trabalhos de ADOLPHO LUTZ e de ANTONIO PERYASSU tratam problemas relativos a associações entre plantas e mosquitos. Em 1915, o termo "ecologia" aparece no título de um dos capítulos de uma monografia de nossa autoria e, em 1916, no de um trabalho, nunca publicado, que apresentamos à Sociedade de Ciências Naturais de Buenos Aires, sobre "Ecologia dos flagelados parasitos". Sobre assunto intimamente relacionado com a ecologia — a biogeografia —, foi o ensaio que publicamos sobre *Vegetação e aspecto fito-geográfico do Brasil*, que constituiu o artigo sobre a flora brasileira no *Dicionário histórico, geográfico e etnográfico do Brasil*, editado pelo Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro, em 1922, ao se comemorar o primeiro centenário da independência política do nosso País. Deste último trabalho, os *Botanical Abstracts* publicaram oportunamente uma pormenorizada análise bibliográfica.

Mas, o desenvolvimento dos estudos sobre ecologia só teve lugar no Instituto Oswaldo Cruz, a partir da gestão do director HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e de seu sucessor, que estimularam os trabalhos de G. M. DE OLIVEIRA-CASTRO, de HENRIQUE PIMENTA-VELLOSO e de outros especialistas. HENRIQUE ARAGÃO promoveu os estudos que o reputado ecologista canadense PIERRE DANSEREAU realizou sobre a vegetação das restingas no Brasil, em colaboração com OLIVEIRA-CASTRO, PIMENTA-VELLOSO e SEGADAS-VIANNA, este do Museu Nacional, bem como aqueles que, com a cooperação de OLIVEIRA-CASTRO, foram realizados no Município de Brusque, Estado de Santa Catarina, por PIMENTA-VELLOSO, por MÁRIO ARAGÃO e outros pesquisadores. Estes últimos estudos versaram as relações da vegetação arborícola de bromeliáceas com o desenvolvimento dos mosquitos do gênero *Kerteszia*, anofelinos que ADOLPHO LUTZ considerou responsáveis no Brasil pela transmissão da malária em regiões montanhosas, onde não há condições fisiográficas para a formação de pântanos. As larvas de *Kerteszia* vivem na água que se acumula entre as folhas das bromeliáceas ou gravatás que, desse modo, se constituem em focos de mosquitos em áreas não paludosas e em ameaça actual ou potencial de propagação da malária. Daí também a relevância do estudo de toda a fauna dessas águas de bromeliáceas e da microflora que aí se desenvolve. Muitos dados interessantes e de importância médica imediata, sobre esse complexo ecológico dos gravatás, foram coligidos por MÁRIO ARAGÃO, como também por PIMENTA-VELLOSO, PEDRO FONTANA JUNIOR, RENATO JOSÉ PEREIRA JACCOUD e ROBERT M. KLEIN.

Não são, entretanto, as *Kertezsia* os únicos anofelinos observados nas regiões montanhosas e em altitudes mais ou menos elevadas. Mesmo no Brasil, estudos de F. M. ROOT, ALBERTO S. RAMOS, NECKIR TELLES, A. VARGAS, MORATO PROENÇA, AYROZA GALVÃO, A. D. F. AMARAL, OVÍDIO UNTI, assinalaram a presença de várias espécies de anofelinos em altitudes variando de 700 a mais de 1500 metros, sendo que entre 1800 e 2400 metros, no Pico de Itatiaia, não foram capturados nem adultos nem larvas de culicídeos.

Os estudos climatológicos, meteorológicos e de fisiografia estão relacionados com esses assuntos, do que é exemplo a importância da Massa Polar Atlântica produtora de ondas de frio, na distribuição das *Kerteszia* e na epidemiologia da malária das altitudes, como foi comprovado por MÁRIO ARAGÃO. Esse autor pôde, outrossim, mostrar "que apenas onde predominam as chuvas gerais, provocadas pela Frente Polar Atlântica, foram assinaladas *Kerteszia*, e que elas só foram encontradas ocupando regiões extensas, onde essas precipita-

ções são acentuadas pelo relevo". MÁRIO ARAGÃO mostrou também a importância das medidas microclimáticas no estudo da ecologia das *Kerteszia* e na epidemiologia da malária.

Os trabalhos ecológicos de PIMENTA-VELLOSO, empreendidos em Manguinhos e depois desenvolvidos em outras instituições de pesquisa, permitiram-lhe publicar em 1966 um valioso *Atlas florestal do Brasil*, editado pelo Ministério da Agricultura, um interessante trabalho sobre *Os grandes climaces do Brasil*, um estudo sobre a vegetação de Mato Grosso e outras contribuições importantes.

Quando director de Manguinhos, tomamos a iniciativa de promover uma série de pesquisas ecológicas em Lagoa Santa, de modo a repetir, nessa clássica estação brasileira de investigação científica, estudos comparativos com os que WARMING lá realizara mais de um século atrás. Desses estudos, com sua grande e reconhecida competência se encarregou OLIVEIRA-CASTRO que, durante cerca de onze anos, lá permaneceu fazendo uma minuciosa análise da vegetação, e de sua correlação com a fauna culicidiana. Os resultados desses trabalhos vêm sendo gradualmente publicados, apesar dos obstáculos e dificuldades que se antepuseram àquele ilustre pesquisador ao completar ele, com os estudos de laboratório, os trabalhos de campo que com tanto esforço e mesmo sacrifício realizou.

Nesses trabalhos executados em Lagoa Santa e em muitas outras regiões do Brasil (Nordeste, Baixo Amazonas e outras), baseou OLIVEIRA-CASTRO o livro que publicou em co-autoria com o ilustre ecologista americano STANLEY A. CAIN, sobre *Análise de vegetação*.

Anteriormente OLIVEIRA-CASTRO já havia demonstrado a existência de uma correlação entre a filogênese e a sucessão ecológica, cujo enunciado e cuja documentação publicou nos *Anais da Academia Brasileira de Ciências*.

Nos trabalhos "Filogênese e sucessão" e "Um método de análise de populações vegetais", este publicado nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, baseado no princípio de morfologia comparativa, de que as formas generalizadas são mais primitivas do que as diferenciadas, OLIVEIRA-CASTRO mostrou que os Culicídeos mais diferenciados, portanto mais recentes, estão nos clímaces mesófilos. Do mesmo modo, baseando-se no princípio da biogeografia de que os gêneros politópicos são mais antigos do que os monotópicos (excepto as raríssimas relíquias) mostrou que nas comunidades mesófilas os faneróganos e os culicídeos de uma mesma linha evolutiva, são mais recentes do que as pioneiras.

Essas correlações, ligando a ecologia à filogênese constituem uma novidade científica, uma contribuição inteiramente original.

Segundo a apreciação (verbal) do ilustre geólogo GLYCON DE PAIVA, esse resultado se apresenta como uma "estratificação horizontal".

Em 1947, na importante revista internacional *Biological Abstracts*, J. L. CARTLEDGE publicou a seguinte análise bibliográfica do trabalho de OLIVEIRA-CASTRO sobre "Filogênese e sucessão":

"Among the Culicinae there is a succession of faunas, with the less specialized species in each group breeding in exposed water pools under pioneer conditions and the more specialized in the forest, in stabilized habitats. The pioneers include more of the widely distributed genera, and those in more advanced habitats include more of the endemic genera. Plant communities at Terezopolis show the same relations between distribution and habitats. In Canada, following DANSEREAU, more of the pioneer plant genera are widespread, and more of the climax types are holarctic in distribution". Nela se deve corrigir um pormenor, de que foi em dados fornecidos por DANSEREAU que OLIVEIRA-CASTRO estendeu ao Canadá as observações feitas no Brasil assim demonstrando a generalidade do fenômeno.

Como é óbvio, e está exemplificado no que acima escrevemos sobre as *Kerteszias*, esses estudos se relacionam sempre com o modo de vida de todos os componentes da associação, que em condições naturais acabam por chegar a um estado de "equilíbrio biológico", o qual importa ao epidemiologista conhecer. Assim, as larvas dos culicídeos do gênero *Mansonia*, ao contrário do que acontece com as de todos os outros mosquitos da mesma subfamília, não vêm respirar à superfície da água, mas prendem-se pelo sifão respiratório às raízes de uma pequena planta aquática, a *Pistia stratiotes*, conhecida no Brasil pelo nome vulgar de "herva de Santa Luzia", a qual nos rios, pântanos e terrenos alagadiços dos nossos sertões, muitas vezes forma "camalotes" flutuantes que chegam a cobrir muitas centenas de metros quadrados. Constituem-se assim, por vezes, grandes focos de *Mansonia*, mosquito que experimentalmente, no laboratório, transmite a febre amarela, sendo portanto um potencial transmissor da febre amarela silvestre que, entretanto, como se sabe, é na natureza transmitida habitualmente por outros mosquitos, os *Haemagogus* e, às vezes, o *Aedes leucocoelenus*. Outro caso de associação biológica de importância médica, é o dos culicídeos, estudados no Brasil por ADOLPHO LUTZ, e que vivem na água que se acumula

nos entrenós dos bambus. Para lá deporem os ovos, as fêmeas adultas e fecundadas desses mosquitos, que são transmissores potenciais e prováveis de várias viroses, penetram através dos orifícios praticados pelas larvas de outros insectos, coleópteros curculionídeos, ou "brocas", que, em Manguinhos, foram objecto de estudo aprofundado de COSTA-LIMA. Nessa associação como se vê, tomam parte uma planta e dois insectos, além do vectarvírus que poderá ser transmitido pelo insecto a vertebrados silvestres depositários eventuais de doença do Homem.

OS INÉDITOS DE MANGUINHOS

Inevitavelmente acontece que, no decurso das pesquisas, muitas observações fiquem inéditas, ou porque se refiram a factos isolados que não parecem comportar uma publicação especial ou se incluir em alguma outra, ou porque estejam ainda incompletas. Há autores, porém, que pela tendência a procurarem a perfeição, não chegam a publicar certos trabalhos por julgarem-nos ainda merecedores de maior desenvolvimento, de novos acréscimos ou de últimos retoques, que a falta de tempo ou de oportunidade não permite lhes sejam feitos. E existem ainda aqueles que, pela curiosidade intelectual que está no fundo e na origem de toda investigação científica, dispersam suas actividades a ponto de não poderem dar conta de todo o trabalho acumulado. E por fim, há os que abordam os problemas científicos e logo que lhes entrevêem a solução se dão por satisfeitos e não procuram dar publicidade aos resultados obtidos. Sem falar naqueles a quem a morte surpreendeu ou a doença interrompeu os estudos. Um pouco de tudo isso ocorreu em várias ocasiões com os pesquisadores de Manguinhos.

Assim é que numerosas observações de GOMES DE FARIA ficaram inéditas, particularmente no campo da microbiologia industrial, que abriu no Instituto Oswaldo Cruz, com os estudos sobre o pão misto e sobre os fermentos, e que por longos anos ele explorou no Instituto Nacional de Tecnologia, com numerosas pesquisas sobre fermentações.

Também ficaram inéditos e provavelmente não serão retomados os estudos de MARQUES DA CUNHA e nossos sobre o ciclo evolutivo de várias espécies de mixosporídios observados no Brasil e dos quais a atenção foi desviada para outros problemas de mais directo interesse médico. O mesmo nos aconteceu e a MARQUES DA CUNHA com o projectado trabalho de conjunto sobre o microplancton do Atlântico que os estudos pioneiros de GOMES DE FARIA e de MARQUES DA CUNHA nos habilitavam a fazer, o material que MARQUES DA CUNHA e nós reuníramos compreendendo colectas de plancton desde o litoral de Pernambuco até as ilhas Orcadas do Sul, quase no Círculo Polar Antárctico.

Até hoje estão em grande parte inéditos importantes trabalhos de OLIVEIRA-CASTRO realizados em Lagoa Santa sobre a ecologia dessa região, em que tal ramo da ciência teve origem com as pesquisas de WARMING, do mesmo modo também que não tiveram publicidade os aprofundados estudos desse autor e continuadores dos de ADOLPHO LUTZ, sobre a fauna brasileira de Tabanídeos ou mutucas.

São esses apenas alguns dos inéditos de Manguinhos de que, provavelmente, cada um dos pesquisadores do Instituto reserva sua parcela ou com ela desapareceu.

Além de todos esses há, naturalmente, como em toda parte, os autores que estão inéditos porque nada até agora tiveram a dizer.

AS COLECÇÕES DE MANGUINHOS

Em outras partes do presente trabalho mencionamos as amplas colecções entomológicas do Instituto Oswaldo Cruz e sua grande micoteca ou colecção de culturas vivas de cogumelos. Mas, não são estas as únicas que se conservam em Manguinhos. Com poucas excepções, cada um dos pesquisadores que por lá têm passado deixou arquivados os documentos de seus trabalhos, representados pelo material que foi objecto de seus estudos e pesquisas.

Assim, dispõe o Instituto de um ponderável acervo de culturas bacterianas, incluindo principalmente as espécies patogênicas para o Homem e para os vertebrados superiores e uma colecção de muitas dezenas de vírus filtráveis ou infra-micróbios conservados em frigoríficos a várias dezenas de graus abaixo do zero centígrado, único meio de mantê-los vivos e viáveis.

A colecção anátomo-patológica merece referência especial. São muitos milhares de espécimes, incluin-

do peças raras e insubstituíveis representando lesões observadas em doenças que hoje não mais se vêem e que estão até aparentemente em vias de desaparecer: a peste pulmonar, a varíola, a febre amarela. Dos casos necropsiados a partir do segundo quartel do século conservam-se, quando interessantes, as peças macroscópicas, os fragmentos de órgãos em líquido fixador e conservador, os fragmentos incluídos em parafina ou em celoidina, os cortes histológicos. De todos os casos necropsiados guarda-se um protocolo de necrópsia e de alguns existe a observação clínica. De modo análogo está organizada a colecção de peças retiradas em intervenção cirúrgica ou por biópsia.

As colecções helmintológicas são preciosas, pois nelas estão compreendidos os exemplares tipos de quase todas as novas espécies de helmintos descritas no Instituto, por LAURO TRAVASSOS e seus discípulos e colaboradores. Aí também está conservado o filarioídeo encontrado no coração do Homem por PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES, observação só uma outra vez assinalada na literatura médica mundial. Representa ele o exemplar-tipo da espécie à qual RAPHAËL BLANCHARD deu o nome de *Filaria Magalhaensi*, e que hoje se inclui no gênero *Dirofilaria*.

No mesmo caso estão as colecções protozoológicas, tanto as de culturas vivas e de animais inoculados com muitas amostras de protozoários parasitos do Homem e de vertebrados superiores, iniciadas por HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO e ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e mantidas há longos anos por JULIO MUNIZ, como as colecções de preparações microscópicas de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, de ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e de outros protozoologistas de Manguinhos.

As colecções do Instituto Oswaldo Cruz têm proporcionado a muitos pesquisadores que não pertencem a seus quadros técnicos realizar ou completar estudos sobre diversos assuntos, em particular os relativos a grupos de animais que interessam à patologia humana.

Nessa matéria avultam os trabalhos de BERTHA LUTZ que além do exercício de seu cargo de professor do Museu Nacional, foi verdadeiramente durante muitos anos uma estagiária, permanente e altamente qualificada, do Instituto Oswaldo Cruz. Aí, a princípio acompanhou e auxiliou os trabalhos de seu ilustre Pai, ADOLPHO LUTZ, e depois da morte deste os continuou. São muitas as contribuições originais de BERTHA LUTZ para o conhecimento da fauna de batráquios anuros cujo estudo ADOLPHO LUTZ empreendera por causa das relações que apresentavam esses animais como hospedadores dos adultos de trematódios cujas cercárias se encontravam em moluscos ao mesmo tempo que as cercárias do *Schistosoma Mansoni*, do estudo de cuja evolução ele particularmente se ocupava nos últimos anos de vida.

Vários pesquisadores da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Rural empreenderam o estudo de grupos zoológicos compreendidos nas colecções de Manguinhos. Dentre estes, JOSÉ HENRIQUE GUIMARÃES se ocupou das moscas da família dos taquinideos; H. E. BARBOZA DE REZENDE e PEDRO DOMINGOS LANZIERI, de moluscos pulmonados, em particular os bulinulídeos; PAULO ILE, dos dípteros da família dos estraciomiídeos; MARCOS KOGAN, de vários hemípteros e colcópteros.

Os pesquisadores D'ANDRETTA JUNIOR e MARIA APARECIDA VULCANO, do Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura de São Paulo, estudaram longamente os simulídeos, isto é, os borrachudos ou piuns, das colecções do Instituto.

JÚLIO C. FERNANDES, da Inspectoria Regional de Defesa Sanitária Animal de Fortaleza, Ceará, trouxe sua contribuição para o estudo dos trematódios.

A BIBLIOTECA DE MANGUINHOS

Ao pôr em funcionamento o Instituto que veio a ter o seu nome, as atenções de OSWALDO CRUZ se voltaram logo para a biblioteca, órgão que é este de importância essencial em qualquer instituição de pesquisa científica. Para lhe dar a necessária estruturação contou OSWALDO com a cooperação de dois homens. Um foi ARTHUR NEIVA que viria a ser um de seus mais destacados discípulos e continuadores, e a quem coube a tarefa, para ele muito grata, de seleccionar as obras clássicas de ciências naturais que Manguinhos deveria possuir. O outro foi o holandês naturalizado brasileiro, ASSUERUS HIPPOLYTUS OVERMEER, como muitos dos naturais de seu país de origem, um poliglota, que, com diligência e método, durante quase quarenta anos exerceu as funções de bibliotecário do Instituto, cargo que mais tarde com dedicação e proficiência foi ocupado por EMÍLIA DE BUSTAMANTE.

Apesar das dificuldades que se lhe tem anteposto e dos períodos de crise financeira do País e do

Instituto que tem atravessado, a Biblioteca de Manguinhos continua sendo uma das mais importantes da América Latina, para tudo o que se refere à medicina experimental e às ciências físicas e naturais.

Sem dúvida, ressente-se ela de falhas, motivadas mormente pela interrupção de assinaturas, que depois não foram retomadas, de periódicos sobre os quais, por parecerem aos responsáveis menos importantes ou úteis para as pesquisas do Instituto, em certas ocasiões recairam os cortes orçamentários e as medidas esporádicas de economia. Isso aconteceu, por exemplo, com as revistas de botânica, nas quais, entretanto, se encontram muitos trabalhos que interessam à biogeografia, à ecologia e à micologia médica, especialidades cultivadas e pesquisadas em Manguinhos. O mesmo ocorreu com periódicos de outras especialidades, sem que tenha havido sempre a preocupação e sem que se tenha feito sempre o esforço necessário para se completarem as colecções desfalcadas. Pouco importa que tais colecções sejam pouco consultadas, porquanto de um lado chega sempre o dia em que vêm a fazer falta, e, de outro lado, as colecções completas, como se poderá ler abaixo, constituem patrimônio cultural e material do qual, nos casos em que o pode fazer, o Instituto muito se orgulha.

A deficiência de recursos financeiros faz também com que a aquisição de livros não seja do vulto desejado. Está claro que os livros, principalmente os didácticos, mas até mesmo os grandes tratados, rapidamente envelhecem e, em poucos anos, estão desactualizados, quando já não o sejam ao serem publicados. Isso não impede que sejam necessários, e, muitos deles, mesmo frequentemente indispensáveis. Aqui, como em relação aos periódicos, o único juiz competente é o pesquisador que deles necessita, nenhum director ou bibliotecário podendo decidir com exacção.

Essas restrições, que fazemos porque não estamos escrevendo apenas para trazer encômios à Escola de Manguinhos, não nos impedem de reconhecer e nisso estamos certo de ser acompanhado por todos os que conhecem o assunto, na Biblioteca de Manguinhos, o que há de melhor em nosso País. Talvez só em São Paulo e, isso a partir dos últimos anos, se encontrando equivalente em assuntos de ordem médica. A Biblioteca do Museu Nacional é sem dúvida mais rica em obras clássicas de ciências naturais. Mas, em Manguinhos se reune uma das maiores colecções de periódicos sobre medicina clínica e experimental, física, química e biologia e grande número de revistas especializadas em diferentes sectores dessas ciências, totalizando cerca de cinco mil títulos.

De muitos periódicos possui o Instituto colecções completas, algumas de alto valor bibliográfico, por se vir mantendo sua publicação às vezes por quase dois séculos. Estão nesse caso os *Annales de Chimie et de Physique* (*), em que foram publicados trabalhos de LAVOISIER, desde 1789; os *Annalen der Physik*, desde 1790; os *Proceedings of the Royal Society of London*, desde 1800; a *Flora oder allgemeine botanische Zeitung*, desde 1819; o *Lancet*, desde 1823; os *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, desde 1832; os *Annals and Magazine of Natural History*, desde 1838; o *Virchow's Archiv fuer palhologische Anatomie und Physiologie und fuer klinische Medizin*, desde 1847; o *Zoological Record*, desde 1864; o *Archiv fuer klinische und experimentelle Dermatologie*, desde 1869; o *American Journal of Medical Science*, desde 1891; etc.

Bem poucas instituições, não sabemos mesmo se alguma no Brasil e na América Latina, podem jactar-se de possuir tais preciosidades.

Em matéria de livros raros não estamos tão favorecidos. Em compensação nos vale a circunstância de dispormos, nesta nossa mesma cidade de São Sebastião, da extraordinária riqueza da Biblioteca Nacional do Rio de Janeiro, antiga Biblioteca dos reis de Portugal, para aqui trazida

(*) Corroborando o ponto de vista de O. DA FONSECA, venho apresentar meu testemunho pessoal quanto aos valiosos préstimos dessa colecção, que a biblioteca de Manguinhos possui desde o primeiro número, lançado em 1789.

Estava a pesquisar, coligindo-a, a obra científica de JOSÉ BONIFÁCIO DE ANDRADA E SILVA, afim de estampá-la na íntegra, por ocasião do bicentenário de nascimento desse eminente brasileiro. Uma dificuldade, à primeira vista intransponível, se me antolhara. Não encontrava em parte alguma referência exacta às publicações por ele feitas fora de Portugal. O famoso *Diccionario Bibliographico Portuguez*, de INNOCENCIO FRANCISCO DA SILVA, era omisso nesse ponto: apenas mencionava a versão francesa duma parte da "Viagem mineralógica na Provincia de São Paulo". Certo estudo do mesmo autor sobre "fluido eléctrico", que não consegui achar em nenhum lugar, era apontado como tendo sido publicado naqueles *Annales de Chimie et de Physique*. Fui a Manguinhos especialmente para consultar a colecção completa dessa revista. Compulsei todos os números do Tomo I ao Tomo LX, isto é, de 1789 a 1806, período em que poderia JOSÉ BONIFÁCIO ter inserido semelhante colaboração naquele órgão. Atirei no que vi e matei o que não vi. Embora não havendo encontrado o suposto "fluido eléctrico", deparei, entretanto, com outro trabalho daquele autor, estampado no Tomo XV da revista em apreço (Outubro de 1792), intitulado "Memoire sur les Diamants du Brésil", subscrito apenas por M. D'ANDRADA. Foi a pista para encontrar o restante das contribuições em linguas estrangeiras. Sob essa assinatura abreviada, JOSÉ BONIFÁCIO publicara na França, Inglaterra e Alemanha, em diversos periódicos científicos, todos os seus trabalhos originais feitos na Escandinávia, o que consta do Vol. I, pág. 66, do *Catalogue of Scientific Papers* (1800-1862), editado pela "Royal Society of London", em 1867 (Nota de E. C. F.).

por DOM JOÃO VI, a qual, para que se tornasse propriedade do Brasil, foi compreendida na indemnização paga à antiga metrópole pela separação do Reino-Unido.

Apesar de não ser abastada em livros raros, possui a Biblioteca de Manguinhos alguns que podem ser considerados valiosos, não só por seu conteúdo e valor intrínseco, como pela mera razão da data em que foram publicados. Está nesse número a *Historia naturalis Brasiliae*, editada e publicada em 1648 por JOHANNES DE LAET, na qual estão reunidas a *De Medicina Brasiliensi* de GUILHERME PISO e a *Historia rerum naturalium Brasiliae* de JORGE MARCGRAVE, sendo essa a edição original e de maior valor que a outra obra, de 1658, publicada somente por PISO sob o título de *De India utriusque re naturali et medica*, em que este último autor pretendeu reunir tudo o que se continha de importante naquela primeira edição. Outro livro de extraordinária valia que possui o Instituto, é o de um dos criadores da Parasitologia, FRANCESCO REDI, ao mesmo tempo um dos demolidores da doutrina da geração espontânea, intitulado *Experimenta circa generationem insectorum*, publicado em 1671. Sem falar nas grandes obras florísticas, como a *Kryptogamenflora der Mark Bradenburg*, de RABENHORST, de que só o primeiro tomo compreende dez grossos volumes e dos quais, infelizmente, desapareceu o quinto que a nós pessoalmente muito interessa e que deve estar em mãos de quem não sabe apreciá-lo; o *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*, de SACCARDO, obra fundamental de tanta importância para os micólogos e fitopatologistas que de seus quase trinta volumes foi tirada uma edição *fac-simile*, sendo que Manguinhos possui a original; a *Flora Brasiliensis* de MARTIUS, a maior obra florística até hoje publicada, com seus quarenta tomos *in folio*; e muitas mais. Essas riquezas bibliográficas, deve-as o Instituto aos cuidados de ARTHUR NEIVA.

Na verdade são modestos os recursos de que ora dispõe o Instituto Oswaldo Cruz para modernizar e actualizar sua Biblioteca. Dentro dessa limitação, todavia, vem sendo ela sempre enriquecida pelas permutas e por novas aquisições de livros e assinatura de novos periódicos.

Para que todo esse enorme repositório de informações fosse convenientemente aproveitado e que os pesquisadores de Manguinhos se mantivessem constantemente a par dos progressos e das novas descobertas nos diversos ramos da ciência cultivados no Instituto, estabeleceu OSWALDO CRUZ sessões semanais de resumos dos artigos que ele pessoalmente marcava nos periódicos recém-chegados, designando para cada um a pessoa que o devia relatar. E assim é que, às tardes das quartas-feiras, reunia-se, a princípio no barracão que servia de biblioteca e, depois na bela sala mourisca de leitura da Biblioteca do Instituto, todo o pessoal técnico superior, cada um lendo o resumo dos artigos que lhe tinham sido atribuídos para relatar e respondendo às perguntas que lhe eram feitas sobre o assunto do mesmo. Essa utilíssima prática prosseguiu durante a gestão de CARLOS CHAGAS, como director de Manguinhos, mas foi suprimida a partir da do seu substituto.

O SERVIÇO GERAL DE APARELHOS

Numa instituição de pesquisa científica com largo âmbito de acção em muitas especialidades, quando os recursos financeiros não são amplos, não é possível permitir-se a duplicação ou a multiplicação dos equipamentos mais dispendiosos, alguns dos quais só ocasionalmente serão utilizados por um ou outro investigador. Isso, bem compreendeu OSWALDO CRUZ, que muitas vezes teve que lutar com a deficiência de verbas.

Por isso, desde o início reuniu ele, no andar térreo do edifício central do Instituto, a maquinária pesada e a aparelhagem destinada a servir a todos os laboratórios. Aí também foram instalados os geradores destinados a fornecer energia eléctrica, uma vez que a rede eléctrica da cidade a princípio não atingia o Instituto e, quando lá chegou, os geradores continuaram por muito tempo a funcionar, garantindo-nos contra os riscos que, aliás, depois sobrevieram, de interrupções de corrente, com sérios danos para a conservação de certos materiais e para o andamento das pesquisas.

Durante a primeira guerra mundial no mesmo local funcionou por algum tempo uma pequena fábrica de gás, planejada por ALCIDES GODOY.

Também nos amplos porões do edifício central ficaram localizadas duas grandes salas compreendendo um laboratório central e compartimentos-estufas regulados a diferentes temperaturas que eram registadas em um comando central. Aí também se instalou a grande sala frigorífica, precedida de outro laboratório, e mantida à temperatura de cinco graus abaixo de zero.

Em outro pavimento, do mesmo prédio central, com idênticos objectivos de evitar desperdício de recursos e capacidade ociosa do equipamento, uma sala de balanças de precisão, dotada dos mais modernos aparelhos, estava instalada.

Parece-nos que até hoje tal ordem de medidas sejam não só indicadas, mas até indispensáveis. Contudo, ao perpassar do tempo foram elas afrouxadas, abandonando-se aquelas práticas e passando-se a fornecer individualmente a vários pesquisadores aparelhos custosos que, de início, deveriam estar à disposição de todos os técnicos numa secção de aparelhos, a cargo de um profissional competente.

Assim pensando, ao assumirmos, em 1949, a direcção do Instituto, resolvemos voltar às antigas normas e instalar um serviço ao qual seriam, em carácter prioritário, fornecidos os aparelhos de uso mais restrito e de custo mais elevado. Aí, sob a chefia de um dos químicos do Instituto, o Dr. HUMBERTO CARDOSO, além de outros equipamentos até então não existentes no Instituto, se reuniram um aparelho de TISELIUS para electroforese (o que de melhor existia na época, quando a electroforese não era ainda o método simplificado e generalizado que hoje é), aparelhagem para microscopia de fluorescência (esta instalada pelo professor KARL AHRENS, da então Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade Federal do Rio de Janeiro) e de luz polarizada.

Mas, ao deixarmos nós o cargo de director do Instituto, foram abandonadas essas instalações e logo se dispersou por diferentes laboratórios o equipamento da secção de aparelhos.

A MICROSCOPIA ELECTRÔNICA EM MANGUINHOS

Já na década de 1940, uma das modernas técnicas de investigação biológica, que mais promissora se revelava, era a da microscopia electrônica.

Antevendo o futuro que a ela se reservava e os resultados que dela se haviam de colher, a directoria de 1949/1953, do Instituto Oswaldo Cruz, tratou de prover essa instituição com a necessária aparelhagem e, mais do que isso, tratou de preparar para seu uso um grupo de técnicos competentes.

Para isso, dirigiu-se a um dos mais reputados técnicos do Instituto, JOSÉ CARNEIRO FELIPPE, cuja alta competência em assuntos de física, de físico-química e de química, sempre estava à disposição de quem o quizesse consultar e aprender. Foi a CARNEIRO FELIPPE que pedimos estudasse que tipo de microscópio electrônico estaria indicado para uso do Instituto. Após cuidadosa apreciação do assunto, tendo em vista sobretudo os problemas de assistência técnica e de manutenção, resolveu-se a aquisição por uma quantia pouco inferior a 500 mil cruzeiros antigos, um microscópio electrônico de marca RCA Victor, para assegurar o funcionamento do qual, tratamos de incorporar aos quadros técnicos do Instituto, um especialista em electrônica e em alto vácuo, HANS MUTH, anteriormente a serviço da RCA Victor.

Mas, definindo uma época, em torno dessa aquisição para Manguinhos do microscópio electrônico, vários episódios ocorreram que é interessante relatar.

Em primeiro lugar, a compra não se podia efectuar sem a autorização do governo dos Estados Unidos que, inclusive, exigia garantias quanto ao pessoal que iria utilizar o aparelho. Depois, o Departamento Administrativo do Serviço Público (DASP), por um de seus representantes, julgando-se com capacidade para opinar em assunto técnico de que os mais competentes no Brasil pouco entendiam, resolveu dar parecer contrário à aquisição do microscópio electrônico escolhido, por haver outros de custo inferior. Está claro que a resposta do director do Instituto foi dada à altura da descabida pretensão daquele Departamento, negando-lhe qualquer competência para opinar em assunto técnico-científico. Também não julgou a direcção do Instituto dever dar contas a um governo estrangeiro do que se fazia numa instituição brasileira, de quem nela trabalhava ou do equipamento que para ela era adquirido. Outro episódio ocorreu, algum tempo depois de estar funcionando o microscópio electrônico, quando elementos interessados em conquistar postos de direcção do Instituto se associaram a um pequeno núcleo de agitadores que teve suas origens já no tempo de OSWALDO CRUZ, para atacarem pela imprensa diária o então director do Instituto. Entre as acusações que se lhe faziam estava a de ter adquirido por alto preço um microscópio electrônico, aparelho para o qual, no dizer deles, não tinha o Instituto utilização.

Foi o microscópio electrônico de Manguinhos o primeiro a realmente funcionar no Brasil. Os que se instalaram nos Institutos de Butantã, em São Paulo, e de Biofísica, na Universidade Federal do

Rio de Janeiro, bem como o do Jardim Botânico desta cidade, vieram muito depois.

É verdade que outros microscópios electrônicos já tinham chegado anteriormente ao nosso País, mas não eram utilizados. Um deles fora adquirido pela Polícia do antigo Distrito Federal, hoje Estado da Guanabara, e somente experimentalmente tinha sido posto em funcionamento por HANS MUTH. Um outro, ao que parece o primeiro a ser trazido para o Brasil, fora doado à Clínica Ginecológica da Faculdade de Medicina da actual Universidade Federal do Rio de Janeiro, a conselho de um assistente afoito e despreparado na matéria, por um bem conhecido Mecenas, MÁRIO RIBEIRO. Não havendo naquela Clínica quem o soubesse fazer funcionar, como não havia, se pode assim dizer, em qualquer outra parte do País, ficou o valioso e dispendiosíssimo aparelho inteiramente abandonado e hoje estará sem dúvida de todo inutilizável.

Para que o mesmo não nos acontecesse, é que não julgamos dever aceitar o presente de um microscópio electrônico, que a nós pessoalmente quis fazer o grande homem de empresa que foi HENRIQUE LAGE, a quem durante muitos anos prestáramos serviços médicos. Na época do Estado Novo, quando isto acontecia, estávamos afastado de Manguinhos e não dispúnhamos de recursos técnicos para fazer funcionar correctamente tal aparelho. Preferimos contemporizar, protelar a aceitação da generosa oferta, quando a morte de quem a fazia veio a resolver definitivamente a questão.

O microscópio electrônico de Manguinhos proporcionou a vários técnicos do Instituto a oportunidade de realizarem trabalhos interessantes utilizando a então nova técnica que hoje é corrente em todas as organizações actualizadas de pesquisas médicas e biológicas. Assim, SOUZA-ARAÚJO pôde estudar, pela microscopia electrônica, o bacilo da lepra, LEJEUNE DE OLIVEIRA e PEDRO FONTANA JUNIOR, com a colaboração técnica de HANS MUTH, puderam publicar seus trabalhos, respectivamente sobre as características de várias espécies de Diatomáceas, à microscopia electrônica, e sobre as estruturas silicosas de plantas superiores. Também EDUARDO PENNA FRANCA e CLOTILDE PACI, com esse aparelho de Manguinhos, puderam estabelecer novas técnicas para o preparo de filmes-suporte para microscopia electrônica. Por essa mesma técnica, MILTON THIAGO DE MELLO, NIBER DA PAZ MOREIRA SILVA e HANS MUTH estudaram os aspectos do *Proteus vulgaris*.

Infelizmente, logo depois que deixamos a directoria do Instituto, foi dispensado o técnico encarregado da manutenção do aparelho, e, abandonado este, foi depredado, suas peças essenciais retiradas para servirem em vários laboratórios.

Com isso, até hoje desapareceu de Manguinhos a microscopia electrônica, que mais tarde se desenvolveu em outros centros brasileiros de pesquisas, como o Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, o Instituto Butantã de São Paulo, e o Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

A DOCUMENTAÇÃO GRÁFICA DOS TRABALHOS CIENTÍFICOS

Desenho, fotografia e cartografia são serviços complementares indispensáveis em qualquer organização do tipo do Instituto Oswaldo Cruz. Às duas primeiras deram OSWALDO CRUZ e seus sucessores mais próximos a maior atenção.

A perfeição da documentação gráfica dos trabalhos publicados nas *Memórias* do Instituto se reflectiu sobretudo na reputação adquirida pelo seu primeiro desenhista, MANUEL DE CASTRO-SILVA, artista de extraordinário mérito no gênero de trabalho que exigiam na época as publicações de Manguinhos, verdadeiro trabalho de miniaturista, no que se referia aos objectos macroscópicos representados, e de observação minuciosa no que dizia respeito aos cortes histológicos e demais preparados microscópicos. Exemplos dessa perfeição artística estão nos trabalhos de GASPAR VIANNA sobre a histo-patologia da doença de Chagas e nos de LUTZ e NEIVA sobre insectos hematófagos.

Depois de CASTRO-SILVA devemos mencionar RUDOLF FISCHER, que mais tarde se transferiu para o Instituto Butantã, onde de tanto desenhar insectos, acabou por tornar-se entomologista.

Outros desenhistas de destaque em Manguinhos foram LUÍS KATTENBACH e PORCIÚNCULA DE MORAES, pintores bem conhecidos, o último professor da Escola de Belas Artes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, EDITH DA FONSECA NOGUEIRA PENIDO, mais dedicada ao desenho de plantas e de flores, particularmente orquídeas, ANTONIO VIEGAS PUGAS, CARLOS DE ALMEIDA E SILVA, L. CORDEIRO, ANTONIO LEAL, ARY GONÇALVES, WALDIR BOTELHO,

e, actualmente, JOEL ANTUNES, WALTER ALVES DA SILVA e RENÉE FERREIRA DE MELO.

Dentre os fotógrafos, destacou-se pelo seus longos e excelentes serviços J. PINTO DA SILVA, cujos trabalhos de execução perfeita nem sempre, entretanto, foram reproduzidos de modo aceitável nas publicações do Instituto.

Da secção de cartografia dos serviços de febre amarela da Fundação Rockefeller, transferiu-se para o Instituto Oswaldo Cruz, um apenas dos trinta cartógrafos lá existentes. Foi o DR. JOSÉ VENÂNCIO DE MOURA que, em outro sector de Manguinhos, continuou a prestar excelentes serviços.

A DIRECÇÃO E A ADMINISTRAÇÃO DE MANGUINHOS

Enleado na complexa trama da administração federal e na rede de dispositivos legais e regulamentares que não tendem em nosso País a facilitar a acção dos responsáveis e dirigentes, o Instituto Oswaldo Cruz tem ainda a particularidade de constituir uma organização em que são das mais díspares as partes componentes. Em primeiro lugar, o Instituto tem por sede uma grande fazenda em que se mantêm dezenas de milhares de animais destinados às experiências de laboratório e a exercerem um papel em diferentes fases da produção de agentes terapêuticos e profilácticos. Uma estação de biologia marinha (a mais antiga do Brasil e, provavelmente, da América Latina), servindo de base para numerosos estudos de fisiologia e de biologia geral, lhe impõe problemas de embarcações, tripulações e regulamentos marítimos. Manguinhos até há pouco era também uma organização industrial, economicamente de porte médio, mas estrategicamente de primeira linha, lá se fabricando produtos importantes para a saúde pública da população e das forças armadas, produtos que a indústria farmacêutica particular não tem meios ou interesse em produzir, tais como vacinas contra a febre amarela e o cólera-morbo. Tudo isso é acrescido às tarefas ordinárias de uma instituição científica, com programas de pesquisa aplicada a iniciativas de investigações de base, que são a própria razão de ser de sua existência.

Um requisito fundamental que deve preencher o director de uma instituição que já teve à sua frente personalidades do vulto de OSWALDO CRUZ, de CARLOS CHAGAS e de HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, é o de possuir autoridade científica reconhecida no País e, se possível, nos meios internacionais de sua especialidade. Ao futuro caberá responder se foi esse requisito preenchido por todos os que, no cargo, sucederam àqueles grandes brasileiros. Além dessa, fundamental, outras qualidades, nem sempre exigíveis nos altos postos da nossa administração, se têm revelado necessárias na direcção de Manguinhos: fortaleza de ânimo para sustentar as lutas e enfrentar as dificuldades que se antepõem a quem no alto posto tem pretendido manter as honrosas tradições daquela Casa e levar a cabo obra científica durável, e, até mesmo, resistência física para suportar a carga de trabalho a realizar.

Se em matérias de ordem administrativa pode o director de Manguinhos confiar a outrem as decisões, delegar responsabilidade e poderes, transferir incumbências, a quem lhe pareça apto a assumir aquelas e a bem se desempenhar destas últimas, em tudo o que se refere à orientação científica e tecnológica sua responsabilidade é total e suas obrigações intransferíveis. Foi assim que compreenderam o desempenho do cargo os grandes directores de Manguinhos: OSWALDO CRUZ, CARLOS CHAGAS e HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO. Quando, em 1949, assumimos esse elevado posto e o pesado encargo que ele comportava, no discurso com que nos deu posse das funções de director do Instituto Oswaldo Cruz, o então Ministro de Educação e Saúde, o ilustre Dr. CLEMENTE MARIANI BITTENCOURT, numa frase expressiva bem caracterizou a situação, dizendo que naquele momento estávamos cônscios, ele e nós, das responsabilidades que ambos assumíamos.

Assim sendo, a direcção superior de Manguinhos e a administração directa de seus diversos serviços constituem tarefa das mais difíceis e complicadas, compreendendo uma muito grande variedade de problemas a defrontar e a resolver. Com o tempo, a direcção e a administração aí se foram gradualmente tornando mais complexas.

A princípio era Manguinhos uma fazenda abandonada, cujas casas velhas e mal conservadas foram aproveitadas para laboratórios, biotérios e cavalariças, estas destinadas aos cavalos que produziriam os soros preventivos e curativos, que lá se preparavam contra várias doenças infectuosas. Aos poucos, foram sendo construídos o Pavilhão de Peste, o aquário, o biotério e as modernas cavalariças, enquanto lentamente se erguia o edifício central em que foram sendo alojadas a biblioteca, a maioria dos laboratórios, a administração, a sala

de máquinas, as estufas, e a sala de balanças. Por sua vez, o quadro de pessoal técnico foi sendo acrescido de novos profissionais e, já na primeira organização oficial que foi dada a Manguinhos, dispunha o Instituto de um director, que era OSWALDO CRUZ, de dois chefes de serviço (ROCHA-LIMA e FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS) e de seis assistentes (CARLOS CHAGAS, ARTHUR NEIVA, HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, ALCIDES GODOY, EZEQUIEL DIAS e ANTONIO CARDOSO FONTES). Mas, além destes, vieram a se incorporar ao Instituto, como contratados, dois pesquisadores de reputação já formada, ADOLPHO LUTZ e GASPAR VIANNA, enquanto outros se lhe juntavam formados no Curso de Aplicação e nos laboratórios da instituição. Já através da reforma de 1919, na gestão, como director, de CARLOS CHAGAS, o número de pesquisadores triplicou, havendo seis chefes de serviço, doze assistentes e nove adjuntos de assistente, sendo que, em 1926, assistentes e adjuntos vieram a constituir uma categoria única de chefes de laboratório, em numero de vinte e quatro. O quadro permanente passou então a compreender, além do director, trinta outros pesquisadores. A esses, porém, se juntava um número sempre crescente de contratados que se recrutavam entre as novas gerações de pesquisadores formados nos cursos e laboratórios do Instituto.

Ao mesmo tempo que esses acréscimos se faziam ao quadro de pessoal, tinham que ser ampliadas as instalações e, consequentemente, se empreendiam novas construções. Na gestão de CARLOS CHAGAS, terminou-se a construção, apenas iniciada, do Hospital que hoje tem o nome de EVANDRO CHAGAS, construiram-se novas cavalariças e pavilhões destinados a oficinas, que se vinham sempre ampliando, e o Pavilhão de Química em que se alojaram os laboratórios de química e de micologia e o Serviço de Medicamentos Oficiais (Quinino do Estado, medicamentos anti-helmínticos, óleo de chalmugra para tratamento da lepra). Por sua vez, a Fundação Rockefeller, ao assumir o encargo de, conjuntamente com o governo brasileiro, promover a extinção da febre amarela urbana em todo o território nacional, construiu nos terrenos do Instituto seus laboratórios e as instalações anexas, inclusive um campo de "tênis". Em 1949, ao serem todos os serviços de febre amarela da Fundação transferidos para o âmbito da administração federal, o prédio em que estavam instalados foi entregue a Manguinhos, passando a constituir o Pavilhão Rockefeller. Nele, quando director do Instituto, fizemos colocar uma placa de bronze em que estão inscritos os nomes de todos os pesquisadores e sanitaristas da Comissão Rockefeller que trabalharam no Brasil e desse modo prestaram serviços ao nosso País.

Actualmente o Instituto Oswaldo Cruz compreende a antiga Fazenda de Manguinhos com cerca de 800 mil metros de área contínua, em que estão localizados mais de cinquenta prédios e pavilhões. Durante a gestão do director ANTONIO CARDOSO FONTES, perdeu o Instituto parte da faixa litorânea, que foi ocupada pelo Ministério da Aeronáutica e, recentemente, os terrenos àquela faixa adjacentes em que o Ministério da Saúde construiu o edifício da sua delegação no Rio de Janeiro, a 15.ª Delegacia Federal de Saúde. Na gestão do director HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, à antiga propriedade do Instituto, foi acrescida a Ilha do Pinheiro em que estão instaladas a Estação de Biologia Marinha e a Colônia de Primatas. A área ocupada pelo Instituto é, pois, hoje de cerca de um quilômetro quadrado.

Os quadros de pessoal do Instituto, inclusive bolsistas e estagiários, chegou a atingir perto de um milhar, nesse número se incluindo mais de uma centena de funcionários de nível universitário que, em princípio, devem ser pesquisadores.

Para a administração de toda essa organização foi sempre necessária aos directores do Instituto a colaboração de funcionários administrativos competentes, alguns dos quais, nas directorias de OSWALDO CRUZ, CARLOS CHAGAS e seus sucessores imediatos merecem ser mencionados pelo papel relevante que tiveram no bom êxito dos trabalhos: MANOEL DE SOUZA GOMES, com as funções de administrador, superintendendo todos os serviços auxiliares; WALDEMIRO DE ANDRADE, tesoureiro nas primeiras administrações; THEOPHILO OTTONI MAURÍCIO DE ABREU, que desde a gestão de CARLOS CHAGAS até a nossa prestou relevantes serviços como responsável por toda a organização orçamentária e financeira; AMILCAR OZÓRIO, depois responsável pelo sector de documentação do Ministério de Educação e Cultura; JOSÉ CARLOS WERNECK DE AVELLAR, que tecnicamente (inoculações, sangrias, tomadas de peso e de temperatura) respondia por tudo o que se referia aos cavalos produtores de soros e, consequentemente, era também o chefe das cavalariças, com seus auxiliares MANOEL CALDEIRA, ANTONIO e JOSÉ DUARTE; ALVARO PINTO RIBEIRO, encarregado da distribuição asséptica dos soros e vacinas; os chefes de oficina e maquinistas TABORDA, CESAR D'ANIBALLE e JOÃO GOMES DOS SANTOS.

DISSERTAÇÃO

Cadeira de Hygiene e mesologia

A VEHICULAÇÃO MICROBIANA PELAS AGUAS

PROPOSIÇÕES

Tres sobre cada cadeira da Faculdade

THESE

APRESENTADA Á

FACULDADE DE MEDICINA DO RIO DE JANEIRO

Em 8 de Novembro de 1892

E perante ella defendida (sendo **approvada com distincção**) a 24 de Dezembro de 1892

POR

OSWALDO GONÇALVES CRUZ

Doutor em sciencias medico-cirurgicas pela mesma Faculdade, auxiliar do Instituto Nacional de Hygiene (Estudos de Microbiologia), antigo interno do Hospital da Misericordia, ex-ajudante de preparador interino da Cadeira de Hygiene

FILHO LEGITIMO DO

Dr. Bento Gonçalves Cruz e de D. Amalia de Bulhões Cruz

NATURAL DE S. PAULO

RIO DE JANEIRO

Typographia da PAPELARIA E IMPRESSORA (S. A.) Successora de Carlos Gaspar da Silva

111 e 113 Rua da Quitanda 111 e 113

1893

A' MEMORIA

DO

MEU IDOLATRADO PAI

E

Melhor amigo o

DR. BENTO GONÇALVES CRUZ

PREFACIO

Desde o primeiro dia que nos foi facultado admirar o panorama encantador que se divisa quando se colloca os olhos na ocular d'um microscopio, sobre cuja platina está uma preparação; desde que vimos com o auxilio d'este instrumento maravilhoso, os numerosos seres vivos que povoam uma gotta d'agua ; desde que aprendemos a lidar, a manejar com o microscopio, enraizou-se em nosso espirito a idéa de que os nossos esforços intellectuaes d'ora em diante convergiriam para que nos instruissemos, nos especialisassemos n'uma sciencia que se apoiasse na micro copia.

De facto, desde a primeira série do nosso curso começámos a ler e a manusear livros de microscopia, procurámos exercitar-nos no manejo do microscopio, na technica das preparações, etc. Assim que adquirimos uma certa instrucção n'estes assumptos resolvemos estudar a microbiologia e desde logo mettemos mãos á obra. Faziamos, porém, um estudo de gabinete, puramente theorico e quasi todo perdido, quando por occasião da reorganisação do laboratorio de Hygiene da nossa Faculdade o incansavel e erudito lente d'aquella disciplina creou um laboratorio de microbiologia para o qual inesperadamente fomos convidados pelo talentoso professor de Hygiene, graças á indicação feita de nosso nome pelo nosso sabio mestre o Dr. Martins Teixeira, ao qual desde já tributamos o mais vivo reconhecimento.

2

No laboratorio de Hygiene da Faculdade trabalhámos como ajudante do preparador até Maio de 1890, quando o illustrado Dr. Rocha Faria, então Inspector de Hygiene, creou o Instituto Nacional de Hygiene, annexo á repartição de que era digno chefe ; para este laboratorio passámos então a trabalhar na qualidade de *auxiliar*, logar que ainda hoje occupamos.

Durante todo este tempo de laboratorio muito aproveitámos não só dos ensinamentos de nosso sabio mestre, o Sr. Dr. Rocha Faria, como tambem do illustrado e talentoso Dr. Ernesto Nascimento Silva que sempre soube guiar nossos passos não só como mestre provecto que é, como verdadeiro amigo. Ao sabio lente de Hygiene e ao bom amigo Dr. Ernesto Nascimento Silva, este illustre cultor da sciencia, que hoje tão meritoriamente occupa um logar saliente na Congregação da Faculdade do Rio de Janeiro apresentamos publicamente os mais sinceros agradecimentos.

Creados no laboratorio de microbiologia era um dever escrever nosso trabalho inaugural sobre o assumpto de nossa predilecção; foi o que fizemos. D'entre as interessantes questões que poderiam ser ventiladas com o maximo proveito escolhemos para assumpto de nossa dissertação a « *vehiculação microbiana pelas aguas* », assumpto vasto, de palpitante interesse e cheio de conclusões praticas da mais alta monta.

Dividimos o nosso trabalho em tres partes : I. Agua e os microbios. II. Prophylaxia contra a infecção pelas aguas. III. Exposição dos processos de technica empregados na realisação das experiencias. Na primeira parte estudámos a biologia dos microbios quer saprophytos, quer indifferentes, quer pathogenos e discutimos a questão da vehiculação das molestias microbianas pelas aguas. Na segunda parte estudámos os meios que a sciencia moderna ensina para que se evite a infecção pelas aguas. Na terceira parte fizemos uma ligeira e breve exposição da technica de que lançámos mão na realisação das experiencias que citámos.

Pela simples inspecção do plano de nossa these vê-se que não é ella a exposição d'uma analyse das aguas de nossa cidade ; e nunca foi esta a nossa intenção, por isso que um estudo d'esta natureza demandaria muito tempo e socego de espirito de que não dispunhamos quando escrevemos este trabalho, que representa como que uma introducção a uma analyse systematica de nossas aguas de abasteci-

mento, estudo este que pretendemos fazer mais tarde se dispuzermos de tempo. O trabalho experimental n'ella exarado tem por fim demonstrar verdades acceitas hoje em microbiologia e que foram por nós verificadas, e consta tambem d'um estudo sobre filtros.

Na introducção apresentámos um apparelho de nossa invenção para colheita de agua em differentes profundidades; apparelho que foi construido entre nós com toda a perfeição. Aproveitamos a occasião para agradecer ao nosso talentosissimo collega e muito particular amigo Dr. Joaquim Candido de Andrade Junior, pela intelligente fiscalisação que exerceu na construcção de nosso apparelho e pelo muitissimo que nos coadjuvou em todo nosso trabalho, bem como ao Illm. Sr. Rodolpho Croner, digno director da *Companhia Metallurgica e Constructora*, pelos favores que dispensou-nos, franqueando-nos as suas bem montadas officinas.

Quando tratámos de filtração domestica apresentámos um filtro cujos estudos estamos procedendo no Instituto de Hygiene e que, não estando ainda concluidos serão mais tarde consubstanciados em uma monographia que pretendemos publicar.

Resta-nos agora explicar a razão pela qual em nossa dissertação empregámos exclusivamente a palavra *microbios* de preferencia a outra qualquer proposta para denominar os micro-organismos. Se assim o fizemos foi não sómente no intuito de evitar confusões, como tambem porque este termo é que está mais de accôrdo com as idéas scientificas actuaes.

A palavra *bacteria* hoje tão usada poderia ser confundida com a especie *bacteria* de certas classificações de modo que não se saberia em certos casos se se referia á especie microbiana ou se aos microbios em geral. As palavras *schizophytos* ou *schizomycetes* não convêm tambem por isso que estas denominações basêam-se n'uma propriedade que hoje está reconhecida não ser commum a todos os microbios, quero referir-me á reproducção por scissiparidade; e assim para as outras denominações. Por esta razão é que admittimos a denominação de *microbios*, dada a estes seres microscopicos em 1858, por Sédillot.

Não poderiamos terminar este prefacio sem depôr o nosso coração agradecido aos pés do illustrado e talentoso profissional que hoje tão brilhantemente dirige a Inspectoria de Hygiene, o Illm. Sr. Dr Bento Gonçalves Cruz, que sempre facultou ao Instituto Nacional de Hygiene todos os meios de que tem carecido para o seu florecimento.

4

Ao pessoal technico do Instituto de Hygiene e em particular aos Srs. Drs. João Barros Barreto e Henrique Tanner de Abreu, bem como ao nosso amigo o Sr. Dr. F. Fajardo, empenhamos os nossos agradecimentos, pelo que contribuiram para a execução deste trabalho.

Rio, 15 de Agosto de 1892.

PUBLICAÇÕES DO "BRAZIL-MEDICO"

CONTRIBUIÇÃO

PARA O

ESTUDO DOS CULICIDIOS

DO

RIO DE JANEIRO

(TRABALHO DO INSTITUTO DE MANGUINHOS)

PELO

DR. OSWALDO GONÇALVES CRUZ

Director technico do INSTITUTO SÔROTHERAPICO FEDERAL do Rio de Janeiro (*Instituto de Manguinhos*); Director do GABINETE DE BACTERIOLOGIA E ANATOMIA PATHOLOGICA da Policlinica Geral do Rio de Janeiro

RIO DE JANEIRO

Typ. BESNARD FRÈRES — 138 Rua do Hospicio

1901

Contribuição para o estudo dos culicidios no Rio de Janeiro

Estudando os culicidios de alguns dos fócos de impaludismo dos arredores do Rio de Janeiro (Jardim Botanico, Sarapuhy), encontrámos uma especie pertencente ao genero *Anopheles*, que não nos foi possivel identificar com as especies descriptas por GILES em seu livro sobre mosquitos, publicado em 1900. Não tivemos occasião de observar os individuos do sexo masculino da especie em questão. Tentámos fazer culturas artificiaes, mas, por ora, não conseguimos mais que os ovos e as larvas, morrendo estas poucos dias após a eclosão, o que attribuimos á baixa temperatura do ambiente, no momento em que operámos (mez de Junho).

Passamos a descrever o individuo adulto do sexo feminino, assim como os ovos e as larvas, nos primeiros dias de seu desenvolvimento.

ANOPHELES SP. ? (*Jardim Botanico, Sarapuhy*)

Côr geral do mosquito: escura quasi preta. Comprimento, não incluindo a *proboscida*: 4 a 6 millimetros.

Azas — Comprimento: 4 a 5 m/m, segundo o desenvolvimento do insecto. Côr geral da aza amarella-loura. Sobre a nervura costal notam-se 3 man-

chas pretas principaes, além de mais quatro secundarias, das quaes tres punctiformes. Das 3 grandes manchas uma occupa a extremidade livre da aza. A essa denominaremos mancha n. 1 (vide fig. 1).

As outras duas assestam-se sobre a nervura costal propriamente dita, extendendo-se para baixo até á primeira nervura longitudinal. Denominaremos essas manchas de ns. 2 e 3. Além dessas, temos a considerar um pequeno ponto mais pigmentado e situado sobre a 5ª nervura longitudinal (N. 8, fig. 1).

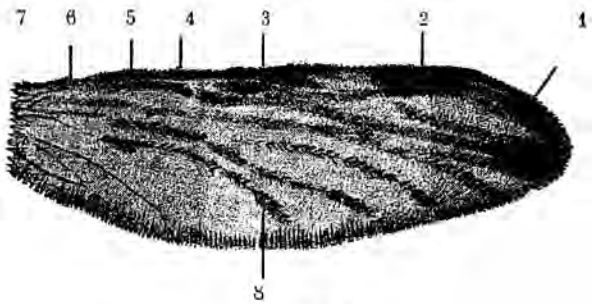


FIG. 1

Aza direita:
(pequeno augmento)
1, 2, 3—Manchas principaes.
4, 5, 6, 7, 8—Manchas secundarias.
1—Mancha escamosa.
2—Mancha mixta.
3—Mancha mixta, com predominancia de pigmento.

As manchas são constituidas por um accumulo de escamas pretas e de pigmento preto. As escamas e a pigmentação não concorrem com igual contingente para a formação de todas as manchas. Assim, a mancha da extremidade livre da aza (n. 1) é constituida quasi que exclusivamente por escamas, e é por isso que póde desapparecer nos exemplares muito manipulados, ao passo que a mancha n. 3 deve sua côr, sobretudo, ao pigmento, como se po-

derá ver pela inspecção da figura n. 2, que, como a de n. 1, devemos á pericia do nosso distincto collega e amigo Dr. Rocha Lima. Essa figura representa a mancha n. 3 vista sob um maior augmento. Todas as nervuras são cobertas de escamas de côr castanha-clara, alouradas. A parte interna da *vena marginalis* é ornada de uma franja constituida por escamas de diversos tamanhos, que se acham em contacto pelas faces planas.

FIG. 2

Detalhes de estructura da mancha n. 3 da aza (Vide fig. 1.)

Abdomen — A côr dominante do abdomen é preta, sobretudo nos exemplares seccos. Examinan-

do-se, porém, attentamente este segmento do insecto, sobretudo quando distendido pelo sangue, verifica-se que, nas membranas lateraes que ligam os arcos tergaes aos esternaes, existe um caprichoso de enho, muito visivel quando se observa sob uma certa incidencia da luz. Esses desenhos são de um castanho-escuro, quasi preto, sobre um fundo castanho muito claro (fig. 3). Como se poderá bem ajuizar pelo exame da fig. schematica n. 3, o desenho é constituido por duas séries principaes de manchas cylindro-conicas, entre as quaes notam-se outras cuneiformes, além de algumas menores de fórmas variadas e inconstantes. Essas manchas, que são muito visiveis nos segmentos médianos, não apresentam rigorosamente a mesma conformação em todos os segmentos, desapparecendo quasi por completo nos ultimos e primeiros anneis abdominaes. A porção dorsal do abdomen apresenta a côr castanha-clara quasi loura, notando-se uma orla preta na porção distal dos segmentos. Sobre o 3° e 4° segmentos notam-se pequenas manchas pretas. O abdomen é coberto de pellos. O ultimo segmento termina-se por dous appendices em fórma de massa : os *ovipositors*. Comprimento do abdomen : cerca de quatro millimetros (fig. 3).

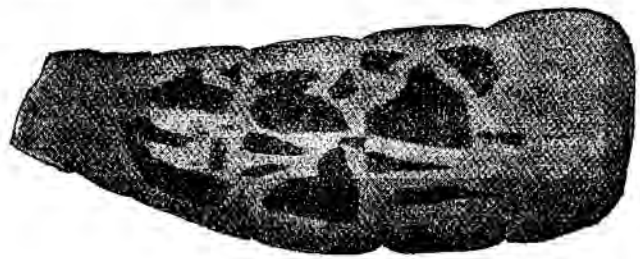


FIG. 3

Desenho da porção lateral do abdomen (schematico).

— 7 —

Thorax — Côr geral castanho claro. O *notum* (vide fig. 4) apresenta a fórma de uma ventarola chineza, cujo cabo acha-se voltado para a parte anterior do corpo. Essa placa, de consistencia dura, apresenta côr amarella e mostra no limite posterior, entre as inserções das azas, uma mancha preta triangular, de base posterior, do apice da qual parte uma faixa escura, que prolonga-se até ao pescoço, ao longo da parte estreitada do *notum*. Essa faixa é ladeada por algumas estrias escuras. Ainda na parte larga do *notum*, marcando os pontos em que elle se afunila, para formar a parte anterior estreita, nota-se, de cada lado, uma mancha irregularmente triangular, de basè posterior e interna, marcando os angulos de um triangulo isoceles, cujo apice seria representado pela grande mancha posterior, já descripta. Essa peça dorsal do thorax é encurvada em tres direcções differentes: Transversalmente e para baixo (vide. c. fig. 4), de modo a formar um angulo diedro, enja aresta seria representada pela linha virtual que ligasse as duas manchas anteriores. Lateralmente, de cada lado, e ainda para baixo (vide a. e b. fig. 4), em direcção aos lados isoceles do triangulo formado pelas manchas. O *notum*, posteriormente, excede as outras partes sotopostas do thorax. Na parte anterior elle continua-se com as pleuras, por intermedio de uma porção membranosa, disposta em plano inclinado. As *pleuras* apresentam-se constituidas por placas pretas, orladas de branco: destas, a situada mais para traz é muito caracteristica, occupando toda a altura da parede. Acima desta placa encontram-se as inserções dos *balancins*, que apresentam uma côr amarellada. A porção esternal do thorax acha-se disposta de modo a fornecer articulação aos tres pares de pernas do mosquito. Comprimento do thorax: 1,5 m/m, a 2 mm (fig. 4).

— 8 —

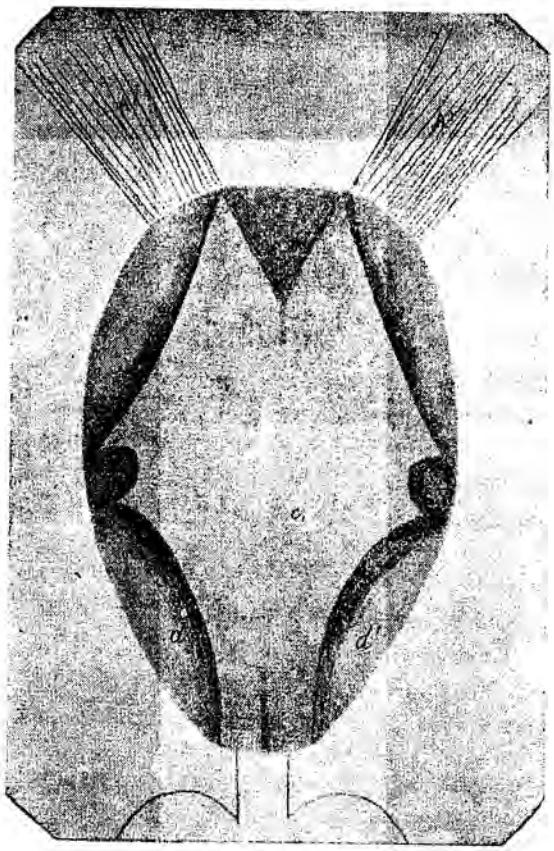


FIG. 4

Desenho schematico da parte superior do thorax.
A, A', — Azas
a, b, c—linhas segundo as quaes se dá o encurvamento do notum.
d, d'—planos inclinados membranosos que ligam o notum ás pleuras.

Pernas — Pernas anteriores : — Comprimento : 8 m/m. Côr, castanha-clara. Ao longo da borda inferior dos segmentos tarsicos, notam-se escamas e pellos de côr preta. Ligeiro accumulo de escamas

pretas nos ultimos segmentos tarsicos, que se terminam por uma garra bi-dentada. Femur fusiforme. *Pernas medias* : — Comprimento 8,5 m/m. Côr geral, castanha-clara. Escamas pretas e castanhas esparsas por todos os segmentos do membro. Nos tarsos, ha alguns pequenos accumulos de escamas pretas, que imprimem ligeiras modalidades na coloração geral do membro, que se termina por uma garra munida de dous dentes. Femur cylindrico, com algumas manchas irregulares pretas. *Pernas posteriores* : — São estas as mais importantes e que apresentam caracteres, que mais impressionam o observador. Comprimento : 11 m/m. Côr geral, castanha-clara. Escamas pretas. Pellos amarellos, que se agglomeram sobretudo junto das articulações. Dilatação conica do tibia junto á articulação tibio-tarsica. A base do cone tibial é munida de pellos, que circumdam o primeiro segmento do tarso, que apresenta-se com côr amarella geral e é coberto de numerosas escamas pretas, terminando por um pequeno annel branco. O segundo segmento do tarso apresenta junto á primeira articulação tarso-tarsica um annel de côr preta, constituido por escamas e pigmento. Todo o segmento apresenta uma côr branca de neve, devida ao accumulo de escamas e pellos prateados. Egual coloração apresenta o terceiro segmento tarsico. O quarto tem, desde a articulação superior até á parte média, uma orla preta em fórma de annel. A metade inferior deste, assim como o quinto segmento, apresenta uma coloração branca amarellada e termina por uma garra provida de dous dentes de côr castanha escura.

Cabeça — A cabeça do insecto é de côr preta e apresenta as seguintes dimensões : diam. ant.-post. 0,8 m/m ; diam. transv. 0,4 m/m. Os appendices da

Brazil-Medico, de 1° de Maio de 1900, e no *Deutsche medicinische Wochenschrift*, n. 29 de 1900, pag. 463. O caracteristico desse processo, que o torna, não mais uma simples variante, mas um novo methodo de vaccinação, seria a diminuição do periodo de preimmunisação, que, nos demais processos, efferentes do de Haffkine, é bastante longo. Consiste elle em fazer culturas do bacillo da peste na cavidade peritoneal de animaes sensiveis.

Eis como os auctores descrevem o processo (*Deutsche med. Wochenschrift*):

« Injecta-se na cavidade peritoneal de uma cobaya ou de um coelho uma quantidade variavel (segundo o peso do animal) de caldo, no qual se tenha emulsionado pequena quantidade de uma cultura em agar recente e muito virulenta do bacillo da peste. Provoca-se assim uma peritonite pestosa, que mata o animal em 24 a 36 horas. Immediatamente depois da morte, ou melhor, no periodo da agonia, afim de evitar a contaminação do exsudato peritoneal pelos microbios que emigram do intestino, recolhe-se, com os cuidados habituaes, esse exsudato, que, se fôr muito espesso, será diluido com uma solução physiologica de sal marinho. Com o fim de se obter um liquido mais rico em microbios pestogenos, póde-se collocar este exsudato n'uma estufa a 37°, durante 12 horas. Tendo verificado anteriormente a pureza do exsudato, por meio de culturas, é elle então submettido á esterilisação discontinua a 50°-52° por espaço de 2 horas, durante 2 dias consecutivos. Após a esterilisação, junta-se ao liquido, em doses variaveis, segundo sua espessura e riqueza em principios solidos, uma solução de acido phenico a 0, 5 °/₀, afim de garantir a sua conservação, assim como uma mistura de carbonato de sodio a 0,25 °/₀ e de chloreto

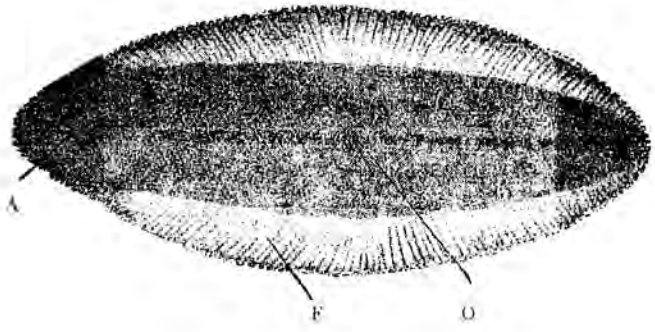


FIG. 5

Ovo visto pela parte superior.
O — Ovo propriamente dito.
F — Apparelho de fluctuação.
A — Abertura por onde se vê a grande extremidade do ovo.

dos mesmos, que são vistos como pequenos grãos escuros com reflexos prateados. Ao microscopio, o aspecto varia, segundo são observados pela parte superior, como estão dispostos sobre a agua (vide fig. 5), ou são vistos de perfil (vide fig. 6).

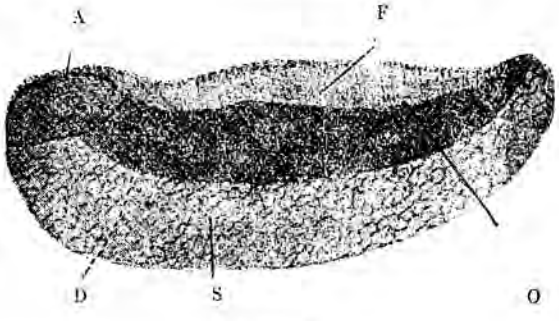


FIG. 6

O ovo visto de perfil.
O, A, F — Como na figura 5.
S — Apparelho de suspensão.
D — Linha segunda a qual se dá a dehiscencia do ovo.

— 12 —

São constituidos por duas porções distinctas : O ovo propriamente dito e o apparelho fluctuador e suspensor. O conjuncto desse systema apresenta as seguintes dimensões: comprimento 0mm,551 ; largura: 0mm,2344: altura: 0mm,1310. O ovo propriamente dito é de côr castanha escura e affecta a fórma de um charuto recurvado, apresentando uma extremidade fina e outra em fórma de clava. Suas dimensões são de 0mm,5517 de comprimento e de 0mm,1517 de diametro, em sua porção mais larga. O ovo assim constituido acha-se disposto, com sua parte concava para cima, sendo mantido nessa posição por um apparelho de suspensão e fluctuação (Vide fig. 7).

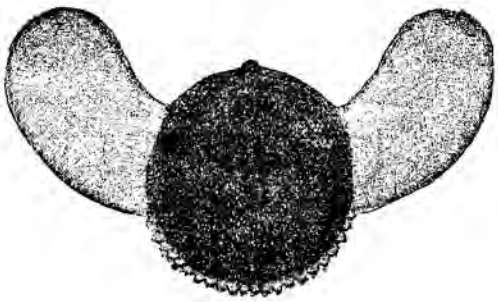


FIG. 7

Secção transversa do ovo (schematica).
A parte central representa o ovo, o rendilhado em baixo representa o apparelho de suspensão, e as partes lateraes o apparelho de fluctuação.

O apparelho de suspensão, que só póde ser observado quando se encara o conjuncto de perfil, é formado por uma rêde de malhas estreitas que se adapta perfeitamente ao ovo, revestindo toda sua parte convexa até á parte média das porções lateraes, onde elle se continúa com o apparelho de fluctuação, que é constituido do seguinte modo : Inserindo se symetricamen-

te ao longo de duas linhas lateraes oppostas, partem, decrescendo em tamanho para as extremidades do ovo, numerosos arcos chitinosos, que, após recurvamento, convergem para uma linha que acompanha a parte superior ou convexa do ovo. Esses arcos, que, recurvando-se, circumscrevem um espaço, cobrem toda a superficie não revestida pela rêde de suspensão, excepto uma pequena porção da extremidade mais dilatada, que fica emergindo d'um orificio, á circumferencia do qual vêm ter os arcos chitinosos mais afastados (fig. 7).

Todos estes acham-se ligados entre si por uma membrana transparente, que fecha completamente os espaços a que nos referimos, que, cheios de ar, representam o papel de boias, e que, ligeiramente encurvados para cima, fórmam como que uma canôa, em cujo fundo se vê o ovo, que mergulha na agua por sua parte inferior convexa, tendo ao ar as extremidades, das quaes a maior acha-se inteiramente desprotegida. A dehiscencia do ovo se dá segundo uma linha obliqua, situada ao nivel da curvatura immersa da grande extremidade e cuja ruptura interessa a rêde de suspensão (Vide fig. 6).

As larvas no fim de tres dias têm o comprimento de 1mm,5. Apresentam os caractéres geraes peculiares ao genero, notando-se a intensa pigmentação da porção média dos segmentos abdominaes.

No que se refere ao modo de vida da especie que acabamos de estudar, em nada parece differir do que ha estabelecido para os «*Anopheles*.» Apparecem ao crepusculo, procurando os lugares abrigados do vento. São encontrados em grande profusão nos estabulos. Durante o dia procuram os locaes escuros e humidos; nos domicilios, os recantos sombrios sob

as cortinas, mesas e camas, atacando os individuos sómente á noite. Quando em captiveiro custam muito a picar. A picada é bastante dolorosa. Parece terem predilecção por certos individuos, o que tivemos occasião de verificar nas excursões que fizémos para colheita de exemplares. Pousam, formando um angulo de mais de 45°, e quando pousados executam com as patas posteriores amplos movimentos de circumducção.

Cotejando a especie que acabamos de descrever com as consignadas na systematica encontrada no livro, já citado, de GILES» « *A Handbook of the Gnats or Mosquitoes*, London, 1900. » vemos que ella apresenta certas affinidades com as seguintes especies : «*An. Albimanus, Wied.*», do qual se distingue, sobretudo, pelo facto de ter sómente os segmentos tarsicos do ultimo par de pernas brancos, emquanto o "*albimanus*" apresenta essa côr em todas as partes.

«*An. albitarsis, Arribalzaga*», com o qual á primeira vista confunde-se. Distingue-se, porém, d'essa especie pela ausencia da coloração branca das 4 primeiras articulações tarsicas, assim como da côr branca do ultimo d'esses segmentos, nos pares de patas anterior e médio. Além d'isso, o abdomen do "*albitarsis*" é descripto como não apresentando desenhos: "Abdomen not stated to be at all adorned».

"*An. argyrotarsis, Desv.*, do qual se distingue pelas manchas do abdomen, que não existem no «*argyrotarsis*»: «abdomen unadorned, black», «abdomen unspotted". Alem d'isso a tonalidade da coloração branca dos segmentos tarsicos do par posterior de patas é differente : branco de neve na especie que descrevemos, branco argiloso (clay-white) no *argyrotarsis*.

PUBLICAÇÕES DO "BRAZIL-MEDICO"

A VACCINAÇÃO ANTI-PESTOSA

Trabalho do Instituto Sôrotherapico Federal do Rio de Janeiro
(INSTITUTO DE MANGUINHOS)

PELO

DR. OSWALDO GONÇALVES CRUZ

Director technico do INSTITUTO SÔROTHERAPICO FEDERAL do Rio de Janeiro (*Instituto de Manguinhos*); Director dos GABINETES DE BACTERIOLOGIA E ANATOMIA PATHOLOGICA da Policlinica Geral do Rio de Janeiro, da de Botafogo e da Associação dos Empregados no Commercio do Rio de Janeiro

RIO DE JANEIRO
Typ. BESNARD FRÈRES — 138 Rua do Hospicio
1901

Ao Exmo. Snr.

Barão de PEDRO AFFONSO

FUNDADOR E DIRECTOR

DO "INSTITUTO DE MANGUINHOS"

A vaccinação anti-pestosa

Com a erupção da peste no extremo Oriente, acudiu logo ao espirito dos sabios a necessidade da descoberta de um meio, que garantisse o homem contra o terrivel flagello: o preparo de uma vaccina. A idéa directriz da questão foi o principio firmado em pathologia geral, segundo o qual um primeiro ataque de uma molestia infectuosa confere immunidade, mais ou menos duradoura, para a molestia correspondente.

Tendo YERSIN e KITASATO isolado o agente causal da peste, facil se tornou esse tentamen. Os primeiros passos nesse terreno fôram ensaiados por HANKIN, que procurou pôr em practica o processo basico das vaccinas denominadas pasteurianas, isto é, das vaccinas por culturas attenuadas. Este processo, porém, não foi adiante. Ultimamente, entretanto, YERSIN e CARRÉ (1) fizeram de novo experiencias nesse sentido, e chegaram a conferir assim immunidade a ratos; mas, não propõem ainda que se applique ao homem o novo processo, julgando grave inocular n'elle bacillo de tal molestia, por mais attenuado que esteja, o qual seria capaz, dadas certas circumstancias, de causar accidentes.

HAFFKINE (2) lembrou-se de trasladar para a peste o technismo de que usára no preparo da vaccina anti-cholerica, pela modificação que fez do processo de FERRAN (3).

— 6 —

Foi a vaccina por elle preparada a primeira ap-applicada em larga escala no homem e cujos resultados practicos são mais conhecidos. Assim, esse processo de vaccinação já pôde ser julgado, e desse julgamento decorrem os seguintes factos :

1 — A vaccina Haffkine é indubitavelmente immunisante contra a peste, sobretudo quando se repete a sua inoculação com dóses progressivamente crescentes.

2 — A immunidade por ella conferida é utilisavel na practica, porquanto se prolonga por um espaço de tempo minimo de 6 mezes.

3 — O seu preparo é passivel de numerosas objecções, relativas á variabilidade do producto, á impossibilidade de sua perfeita dosagem e á intensidade das reacções decorrentes da composição complexa do liquido immunisante.

Estavam assim proclamadas, d'um lado, a efficacia da vaccinação anti-pestosa e, do outro, a necessidade de modificações no seu preparo. Não tardaram essas modificações, conservando, porém, todos os novos processos o principio basico, isto é, a utilisação das culturas mortas como elemento immunisante.

As differentes modificações, por ordem chronologica, successivamente impostas, fôram :

A 1ª — Pela commissão allemã, enviada á India para o estudo da peste e composta de Gaffky, Pfeiffer, Sticker e Dieudonné (4).

A 2ª — Por Lustig e Galeotti (5).

A 3ª — Por Terni e Bandi (6).

A 4ª — Por Calmette (7).

Sómente o estudo cuidadoso desses processos e a passagem de todos pelas ficiras da experimentação

e do raciocinio, poderão fornecer um justo criterio para a escolha de um delles.

Vamos aqui reproduzir os argumentos e factos, que orientaram o *Instituto* na escolha do processo que adoptou. Começaremos pelo estudo do de HAFFKINE.

Consiste essencialmente este processo na injecção sub-cutanea de tres a tres e meio centimetros cubicos d'uma cultura, em caldo, do bacillo da peste, datando de um mez, feita na estufa a 35°, agitada de quando em vez e esterilisada durante 1 hora a 70°. No caldo de cultura é collocado um pouco de manteiga, ou de oleo de côco, que serve de sustentaculo aos microbios, obrigando-os a viver na superficie do meio liquido.

Por este simples enunciado, vê-se que o liquido vaccinante tem uma composição variada, existindo nelle, além dos productos provenientes do metabolismo microbiano e dos proprios corpos dos microbios, outros oriundos da alteração dos principios organicos existentes no caldo. Além disso, a riqueza em corpos microbianos varia conforme o numero de gerações que se tenham succedido na superficie do meio de cultura, o que depende do numero de vezes que este foi agitado. Sendo assim, comprehende-se que será extremamente difficil, senão impossivel, obter-se um liquido constantemente egual a si mesmo, o que constitue grave inconveniente, no tocante á dosagem. Simultaneamente com a parte vaccinante util (corpos microbianos), são injectadas substancias irritantes e pyretogenicas, provenientes das alterações soffridas pelo caldo, *ex-vi* da pullulação microbiana que nelle se fez, accrescendo a isso a inevitavel attenuação do microbio, em virtude do longo tempo de cultura.

— 8 —

A' vista de taes inconvenientes, tendo reconhecido a real efficacia da vaccina de HAFFKINE, a Commissão allemã propoz modificar a technica do seu preparo, substituindo as culturas antigas em meio liquido, por culturas recentes em meio solido, e utilisando-se apenas da parte util destas, i. e., dos corpos microbianos, que são recolhidos na superficie de um meio solido : o *agar*.

Com elles é feita uma emulsão em um liquido esterilisado: o todo, depois de aquecido durante uma hora, a 65°, é addicionado de 1/2 °/₀ de acido phenico. O liquido assim obtido constitue a vaccina, que deve ser injectada, na dose de uma cultura em tubo de agar, por adulto.

E' de imprescindivel necessidade que o acido phenico seja addicionado após a esterilisação, sem o que o liquido perderá todas as propriedades immunisantes.

Como se vê, tal processo é muito mais scientifico e de manejo muito mais seguro que o de HAFFKINE; são apenas injectados os corpos dos microbios mortos, que encerram a toxina immunisante, cuja dosagem póde ser feita de maneira muito segura.

Como uma variante do processo que acaba de ser descripto, póde ser considerado o processo de CALMETTE, o qual representa como que uma ponte de passagem para o processo de LUSTIG e GALEOTTI.

Segundo POTTEVIN (8), a vaccina CALMETTE é preparada do seguinte modo : as culturas vaccinantes são feitas em placas de agar: no fim de 24 horas dilue-se o conteúdo de uma placa em 20 c. c. de agua esteril: filtra-se o mesmo em panno, depois em papel; em seguida é elle lavado sobre o filtro, fazendo-se a suspensão, dos bacillos adherentes a este, em uma pequena quantidade d'agua: depois de aquecido por

espaço de 1 hora a 70°, é então seccado no vacuo. Para immunisar-se um animal com esta vaccina, toma-se um peso determinado dessas culturas seccas, dilue-se em alguns c. c. d'agua salgada e injecta-se sob a pelle ou nas veias.

Pela descripção do processo, vê-se que, na realidade, elle representa um grande passo no preparo da vaccina; mas, as manipulações não são desprovidas de perigo e, além disto, a vaccina solida não nos parece practica, pela difficuldade de fazer-se, na clinica, uma emulsão aseptica.

Lustig e Galeotti (5) pretenderam melhorar extraordinariamente o processo da vaccinação antipestosa, empregando, não mais os corpos microbianos, mas a toxina delles extrahida. Para obtenção desse *desideratum*, os referidos auctores italianos cultivam os bacillos em agar e tratam os mesmos por um soluto de potassa a 1 %. Essa solução é precipitada pelo acido chlorhydrico ou acetico diluidos. O precipitado é lavado e seccado no vacuo. O corpo assim obtido é a substancia immunisante, que será injectada na dóse de 3 milligrs. por adulto, após prévia dissolução no carbonato de sodio a 1/2 %.

O processo seria idéal, si as differentes manipulações de que se lança mão não alterassem profundamente a toxina. Com effeito, os membros da Commissão allemã demonstraram quão delicada é a toxina do bacillo da peste e quanto póde tornar-se nociva a acção sobre ella d'uma solução, mesmo fraca, de potassa. E' bem conhecida a acção deleteria exercida pelos alcalis sobre as differentes diastases, das quaes pódem ser approximadas as toxinas microbianas.

Resta-nos tratar do processo Terni-Bandi, cuja evolução vem successivamente descripta na *Revue d'Hygiène et Police sanitaire* de 1900, N. 1, pg. 62; no

— 10 —

Brazil-Medico, de 1° de Maio de 1900, e no *Deutsche medicinische Wochenschrift*, n. 29 de 1900, pag. 463. O caracteristico desse processo, que o torna, não mais uma simples variante, mas um novo methodo de vaccinação, seria a diminuição do periodo de pre-immunisação, que, nos demais processos, efferentes do de HAFFKINE, é bastante longo. Consiste elle em fazer culturas do bacillo da peste na cavidade peritoneal de animaes sensiveis.

Eis como os auctores descrevem o processo (*Deutsche med. Wochenschrift*):

« Injecta-se na cavidade peritoneal de uma cobaya ou de um coelho uma quantidade variavel (segundo o peso do animal) de caldo, no qual se tenha emulsionado pequena quantidade de uma cultura em agar recente e muito virulenta do bacillo da peste. Provoca-se assim uma peritonite pestosa, que mata o animal em 24 a 36 horas. Immediatamente depois da morte, ou melhor, no periodo da agonia, afim de evitar a contaminação do exsudato peritoneal pelos microbios que emigram do intestino, recolhe-se, com os cuidados habituaes, esse exsudato, que, se fôr muito espesso, será diluido com uma solução physiologica de sal marinho. Com o fim de se obter um liquido mais rico em microbios pestogenos, póde-se collocar este exsudato n'uma estufa a 37°, durante 12 horas. Tendo verificado anteriormente a pureza do exsudato, por meio de culturas, é elle então submettido á esterilisação discontinua a 50°-52° por espaço de 2 horas, durante 2 dias consecutivos. Após a esterilisação, junta-se ao liquido, em doses variaveis, segundo sua espessura e riqueza em principios solidos, uma solução de acido phenico a 0, 5 °/₀, afim de garantir a sua conservação, assim como uma mistura de carbonato de sodio a 0,25 °/₀ e de chloreto

de sodio a 0,75 °/₀, com o fim de facilitar a reabsorpção do liquido, quando injectado.»

Inoculando animaes com a vaccina assim preparada, a immunidade deveria apparecer já no fim de 4 dias, havendo assim um avanço de 6 a 8 dias sobre as outras vaccinas. Esse facto seria attribuido, segundo os auctores do processo, á existencia no liquido vaccinico de substancias que conferem a immunidade immediata, substancias analogas ás existentes no sôro anti-pestoso.

Nas experiencias que fizemos não nos foi dado verificar esse asserto dos sabios italianos. No que se refere á época do apparecimento da immunidade, a vaccina Terni-Bandi comportou-se de modo identico ao da vaccina de Haffkine e suas modificações. A immunidade só appareceu no fim de 10 a 12 dias: todos os animaes immunisados com ella e inoculados com peste antes de decorrido esse lapso de tempo, i. é, entre 5 e 9 dias, succumbiram mais cêdo que os animaes testemunhas.

Esses são os factos que nos forneceram a experimentação.

Si sujeitarmos agora o assumpto ao cadinho da logica, chegaremos á conclusão de que o apparecimento das estimulinas nos organismos dos animaes se fazendo lentamente, essas substancias, analogas ás do sôro antipestoso, não podem ainda ter apparecido em tão curto espaço de tempo; haja vista o que se passa na preparação desse mesmo sôro. Depois, acceitando como averiguada a existencia de taes substancias, nos poucos centimetros cubicos de liquido peritoneal recolhido, essas substancias attingiriam, na vaccina prompta, a uma tal diluição, que as tornaria inefficazes, sobretudo quando se sabe que, para conferir a immunidade passiva pelo sôro,

são necessarios muitos centimetros cubicos do dito sôro, que só é obtido no fim de mezes de immunisação do animal que o tem de fornecer.

Outra vantagem do processo TERNI-BANDI seria, na opinião dos auctores, a alta virulencia do material empregado. Na realidade, a passagem do bacillo da peste, através do peritoneo dos animaes, exalta a virulencia do microbio. Mas, si por um lado este facto é real, por outro, as manipulações, a que se submette a vaccina ulteriormente tendem a diminuir essa virulencia. Com effeito, de accôrdo com o que demonstrou a Commissão allemã quando se pronunciou sobre a vaccina de LUSTIG, em cujo preparo entra um alcali (potassa), a addição da solução de carbonato de sodio deve ser muito prejudicial á toxina. Essa acção nociva dos alcalis sobre as substancias semelhantes ás toxinas, como as diastases, é bem conhecida [DUCLAUX) (9], para que sobre ella nos espraiemos aqui.

Outra objecção de que é passivel o processo, que ora estudamos, refere-se á difficuldade de ser obtida uma rigorosa dosagem do material vaccinante. Esta é feita, diluindo-se o exsudato, de modo a que se obtenha um liquido que encerre por c. c. 1 milligr. de substancias solidas, representando as «nucleoproteides especificas» (TERNI). Mas, segundo affirmação dos proprios auctores, como aliás é facil de se observar, no exsudato peritoneal existem, além dos microbios, globulos de pús, cellulas epitheliaes e uma parte liquida que contem saes e corpos albuminoides soluveis, cuja quantidade varia, naturalmente, de accôrdo com a intensidade da reacção do animal. Ora, o peso dessas substancias (globulos de pús, cellulas epitheliaes, etc.) entra como elemento constitutivo da cifra, que representa a dose vaccinica, e,

como a variação da quóta dessas substancias não póde ser conhecida, porque é funcção da reacção organica, que, como toda a reacção vital, não póde ser dosada de antemão.—segue-se que a dosagem não póde ser revestida do rigor necessario.

Como objecção practica temos, finalmente, ainda, a que se refere ao custo relativamente elevado desta vaccina, em comparação com as outras. Para a preparação de 50 a 60 c.c. do liquido immunisante Terni, é necessario o sacrificio de uma cobaya.

Assim, pois, cotejando os diversos processos de preparo da vaccina anti-pestosa, aquelle que melhores condições apresenta é indubitavelmente o da modificação proposta pela Commissão allemã, cujas vantagens podem ser assim resumidas :

1 — Inoculação vaccinante feita exclusivamente com os corpos microbianos mortos, sem outros elementos extranhos inertes.

2 — Possibilidade de proceder-se a uma rigorosa dosagem.

3 — Rapidez e segurança no preparo.

A Commissão allemã indicou sua modificação em largos traços, mas, não tendo tido opportunidade de preparar a vaccina em grosso, não codificou o technismo. Foi esse trabalho que o *Instituto* procurou completar do modo por que vae resumidamente exposto nas linhas que se seguem.

Nesta exposição, descreveremos successivamente as differentes operações que se succedeiu até obtenção da vaccina: preparação de uma *semente* de virulencia constante; obtenção das *culturas*; preparo e *esterilisação* da *emulsão* vaccinante; sua *dosagem*, *distribuição* e *acondicionamento*.

Semente — Para obtenção de uma boa vaccina é de imprescindivel necessidade o emprego de culturas

muito virulentas do bacillo da peste. Como esse microbio attenua-se facilmente, nas culturas em meios artificiaes, convém serem feitas repetidas passagens pelo organismo de animaes sensiveis, procedendo-se do seguinte modo : Injecta-se sob a pelle do abdomen de cobayas uma certa dose de cultura virulenta de peste, de 24 a 48 horas. Quando os animaes apresentam se bastante doentes, são sacrificados pelo chloroformio. O baço é retirado asepticamente, triturado com areia em vaso esterilisado e semeado em caldo de carne glycerinado a 4 %. A cultura obtida no fim de 48 horas, desde que seja reconhecida pura, serve para o preparo das culturas definitivas.

Quando a semente existente no laboratorio está muito attenuada, o que se observa muito commummente, póde-se, para ganhar tempo, proceder do seguinte modo : injecta-se uma dose relativamente grande de uma cultura recente (48 h.), em caldo, no peritoneo d'uma cobaya. Quando o animal está no periodo pre-agonico, é sacrificado; recolhe-se asepticamente o exsudato peritoneal, que é injectado sob a pelle do abdomen de outra cobaya, cujo baço serve para as culturas, como acima ficou dito.

Poder-se-hia tambem empregar outros processos para exaltar a virulencia : pincelagem da mucosa nasal [Metchnikoff (10], Batzaroff (11); pincelagem da conjunctiva [Koch e Pfeiffer (12]: inoculação sobre a pelle raspada [Weichselbaum, Albrecht e Ghon (13]; passagem repetida pelo peritoneo de animaes sensiveis.

Culturas — Com a semente muito virulenta assim obtida, são feitas culturas em agar peptonisado e glycerinado a 4 %, solidificado em plano inclinado no interior de garrafas de Roux, de capacidade

de 1200 c. c., apresentando uma superficie de cultura de cerca de 220 cm². Para evitar a exsudação da agua, o agar deve ser esterilisado a 120°, durante 3/4 de hora [CHANTEMESSE (14)]. Por meio de uma pipeta de vidro, dilatada em bola, introduz-se na garrafa, que encerra o meio nutritivo, alguns c. c. da cultura em caldo da semente, e faz-se com que esse liquido se espraie sobre toda a superficie do agar, que, assim semeado, é collocado na estufa a 35°, onde fica durante 48 horas, ou melhor, é deixado na temperatura ambiente, como aconselham MARKL (15) e LIGNIÈRES (16). No fim desse lapso de tempo procede-se ao preparo da emulsão.

EMULSÃO — Por meio de uma pipeta de bola, de cerca de 20 c. c. de capacidade, introduz-se asepticamente na garrafa em que foi feita a cultura, 16 a 20 c. c. d'agua physiologica. Faz-se com que o liquido introduzido percorra toda a superficie do meio de cultura, afim de embeber a camada microbiana. Introduz se depois na garrafa um fio de platina, esterilisado por incandescencia, fio cujo fim é descolar e emulsionar a cultura microbiana. Isto se obtem sem difficuldade, fazendo-se com que o fio percorra toda a superficie do meio nutritivo, o que facilmente se consegue dando ao vaso de cultura movimentos cadenciados e synchronicos, analogos aos que se imprimem ás cubas photographicas por occasião da revelação das chapas.

Para tornar bem homogenea a emulsão assim obtida, é ella passada através um tecido de panno ou de uma tela metallica de malhas regulares. Por meio dessa operação dissociam-se os grumos existentes, offerecendo-se desse modo melhores condições para a subsequente esterilisação.

ESTERILISAÇÃO — Esta é obtida pelo aquecimento

na estufa, a 65°, durante 1 hora. E' isto uma operação para a qual é preciso toda a attenção, porquanto o material empregado no preparo da vaccina deve ser altamente virulento, e, como a parte vaccinante do liquido é exclusivamente representada pelos corpos dos microbios [PFEIFFER (17)], é de absoluta e imprescindivel necessidade, que haja inteira certeza de morte de todos os elementos microbianos.

A emulsão, depois de coada asepticamente, é transvasada para um recipiente esterilisado (balão PASTEUR). Este vaso, após energica agitação, é collocado no interior de uma estufa de paredes duplas, contendo agua e munida d'um thermo-regulador muito sensivel (thermo-regulador bi-metallico do ROUX) e regulada a 65°.

Uma vez a estufa aquecida, colloca-se em seu interior, simultaneamente: o recipiente que encerra a emulsão e outro perfeitamente identico, contendo uma quantidade d'agua physiologica egual á da emulsão microbiana. O reservatorio do thermometro interno da estufa deve ficar mergulhado no liquido contido naquelle ultimo receptaculo. A estufa é então fechada. A columna do thermometro interno desce, indicando a temperatura do liquido em que mergulha o thermometro. Sómente quando este accusar a temperatura de 65°, indicando assim a temperatura real da vaccina, é que começa-se a contar o tempo da esterilisação, que, como dissemos, é prolongada por 1 hora. Terminada a esterilisação, procede-se cuidadosamente á verificação da esterilidade da vaccina.

VERIFICAÇÃO DA ESTERILIDADE DA VACCINA — Se bem que esteja demontrado que o bacillo pestoso, collocado em meio liquido (caldo), no interior de tubos de ensaio, succumba pela permanencia a 54° C., durante 30 minutos [TOPSTSCHIEFF (18)], comtudo é de

imprescindivel necessidade verificar, se, apezar da esterilisação feita como acima ficou descripto, existe ainda algum micro-organismo vivo, que, collocado no interior de um grumo, posssa ter, porventura, escapado á acção do calor. Essa verificação deve ser feita por meio das culturas e pela experimentação animal. Para isso, 24 horas após a esterilisação da vaccina, é ella largamente semeada n'um meio propicio ao desenvolvimento do bacillo da peste (caldo peptonisado e glycerinado a 4 %). Outra porção é injectada no peritoneo de animaes sensiveis. Si o animal succumbe, faz-se a autopsia e abundantes sementeiras com o baço, afim de se verificar si o animal succumbiu de infecção ou de intoxicação pestosa. Depois de verificada a esterilidade perfeita da emulsão procede-se á dosagem.

Dosagem — A Commissão allemã determinou como dose para adulto uma diluição da cultura desenvolvida n'um tubo de agar, collocado na estufa, a 35°, durante 48 horas.

Na practica, porém, essa dosagem é muito difficil, porque no preparo da vaccina, em grande, é quasi impossivel fazer-se uma cultura por pessôa. Convém sempre que as culturas sejam feitas em grandes superficies. Mesmo, porém, que fossem feitas em tubos, a dosagem não poderia ser rigorosa, porquanto a quantidade de cultura em cada tubo dependeria de varios factores: tamanho do tubo, extensão da superficie do agar, modo de semeação, etc. A' vista disto, o *Instituto de Manguinhos* resolveu proceder á dosagem da vaccina por pesagem, tomando por termo de comparação o valor ponderal médio de uma cultura em tubo de agar, para o que foi necessario fazer a determinação desse peso.

— 18 —

Determinação do peso médio d'uma cultura em tubo de agar — Para isto são feitas semeações, por estria, em tubos de agar inclinados, de differentes comprimentos e de diversos diametros, contendo quantidades variaveis de meio nutritivo. As semeações são feitas com porções variaveis de semente e em superficies varias. Os tubos semeados são privados da agua de condensação. As culturas, assim feitas, são levadas á estufa a 35°, durante 48 horas, findas as quaes são todas emulsionadas n'uma quantidade conhecida de agua distillada e esterilisada a 65°, durante 1 hora.

A emulsão assim preparada contem, além dos corpos microbianos, todas as materias mineraes e organicas existentes no caldo e soluveis na agua distillada. A emulsão total é evaporada em banho maria, n'uma capsula de platina tarada, e o residuo, após deseccação em presença do acido sulfurico, por 24 horas, é pesado. A cifra assim obtida representa o peso dos corpos microbianos, mais os productos soluveis acarretados pela agua.

Por um ensaio prévio,—consistindo no tratamento pela mesma quantidade d'agua distillada, usada no preparo da emulsão, de tubos de agar identicos aos empregados nas culturas, porém não semeados,—conhece-se o valor ponderal das substancias dissolvidas, o qual, sendo deduzido do peso total obtido, fornece o verdadeiro peso dos corpos microbianos.

O resultado assim alcançado, dividido pelo numero de tubos empregados nos ensaios, fornece o *peso médio de uma cultura em tubo de agar*.

Conhecida ponderalmente para uma determinada cultura a dose media vaccinante para um adulto, facil se torna sua dosagem, para o que dilue-se a emulsão obtida em agua physiologica, de modo que se

consiga, por exemplo, em cada 2 c.c. de vaccina, uma quantidade de corpos microbianos correspondente á de uma cultura, de 48 horas, em tubos de agar.

Comprehende-se que esse peso possa variar muito, de accôrdo com diversas circumstancias, como sejam: a natureza da semente; maior ou menor tempo de sua vida no laboratorio; sua virulencia; composição do meio de cultura, etc., etc.

Conservação da vaccina — Afim de assegurar a conservação da vaccina e tambem para absoluta segurança de sua esterilidade, convém juntar, após a diluição, 1/2 °/₀ de acido phenico. E' de toda a importancia que essa addição de acido phenico seja feita sómente após a esterilisação, sem o que a emulsão perderia suas propriedades immunisantes (Comm. allemã).

Depois dessas manipulações, a vaccina é transvasada asepticamente para o apparelho distribuidor.

Apparelho distribuidor. — Este apparelho, como se vê na fig. 1, é constituido por duas porções distinctas: A e B, unidas entre si por um tubo de borracha. A porção A é um vidro que serve de deposito á vaccina e a porção B é o apparelho mensurador e distribuidor. O deposito da vaccina é constituido por um frasco A, de 2 litros de capacidade, tendo a bocca obturada por uma rolha de borracha bi-perfurada. Um dos conductos da rolha é atravessado por um pequeno tubo de vidro, curvado e estrangulado (a), tendo em seu interior uma rolha de algodão. O outro canal é atravessado por um longo tubo, tambem de vidro, curvado em angulo recto (b), cujo ramo mais longo penetra até o fundo do frasco; a extremidade livre desse tubo liga-se, por meio de um tubo de borracha, á porção

mensuradora e distribuidora do apparelho (B). Esta é constituida por uma buretta graduada, á parte superior da qual adapta-se o tubo de borracha (t), que a liga ao deposito (A). A' sua parte inferior adapta-se um tubo de borracha de pequeno calibre (b'), terminado por um tubo de vidro curvado em angulo recto e afilado na lampada.

Entre as porções A e B do apparelho acha-se intercalado um dispositivo C (fig 2), destinado a facilitar a entrada e sahida do ar da buretta, durante o funccionamento do apparelho. Este dispositivo consiste n'um tubo de vidro em ⊢, no interior de cujo ramo vertical (c) acha-se, concentricamente a elle soldado, na extremidade superior, outro tubo (c') tambem de vidro, de menor calibre. A extremidade inferior d'este emerge no interior da buretta, deixando um espaço annular, pelo qual o ar póde circular, communicando-se com o ar exterior, por intermedio do tubo horizontal (d), em cujo interior existe um filtro de algodão (p).

O funccionamento do apparelho consta de dous tempos:

1° Repleção do deposito (A) com a vaccina.

2° Mensuração e distribuição da vaccina nos tubos esterilisados.

Depois de collocar algumas gottas d'agua no interior do apparelho, procede-se a sua montagem. Protege-se a rolha de borracha do frasco (A) com uma camada de algodão, que é sujeitada por algumas voltas de barbante. Soldam-se á lampada as extremidades dos tubos de vidro (d) e (e) e esterilisa-se o todo no autoclave, tendo-se o cuidado de fazer o aquecimento e o resfriamento com a maxima attenção.

Para collocar a vaccina no interior do appa-

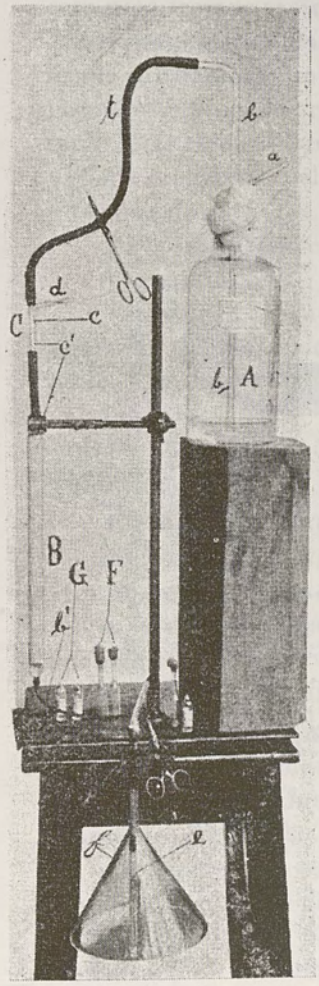


FIG. 1

APPARELHO DISTRIBUIDOR DA VACCINA

(*Modelo do Instituto de Manguinhos*)

A — Deposito da vaccina.

a — Tubo de vidro munido d'uma rolha de algodão por onde se faz a aspiração para encher o apparelho e por onde se insuffla o ar para fazer funccionar o syphão.

b — Tubo de vidro por onde sahe a vaccina.

B — Buretta mensuradora.

C — Peça intermediaria destinada a permittir a circulação do ar na buretta.

F — Tubos esterilisados para enfrascamento da vaccina.

G — Os mesmos depois de sellados á lampada.

Fig. 2

Dispositivo para permittir a circulação do ar na burella. As setta indicam a direcção que toma o ar quando comprimido no interior da burella pela vaccina que chega pelo tubo c.

relho, usa-se da seguinte technica. Ao tubo (a), adapta-se uma borracha, que o ponha em ligação com uma trompa aspiradora; passa-se na chamma e quebra-se a extremidade do tubo de vidro (e), esterilisado préviamente no interior de um tubo de ensaio. Fazendo-se funccionar a trompa ou uma bomba aspirante, o ar rarefaz-se no interior do apparelho e a vaccina é aspirada pelo tubo (e), colleccionando-se no reservatorio A.

Deve-se ter todo cuidado de evitar a entrada do ar no apparelho.

Terminada a aspiração, comprime se o tubo de borracha (b') por meio de uma pinça, e desde então póde-se proceder á mensuração e distribuição da vaccina.

Eis como se dispõe o apparelho para esta segunda operação :

Eleva-se o reservatorio (A), de modo que o fundo do frasco fique em nivel superior á extremidade inferior do pequeno tubo de vidro concentrico (c'). Insuffla-se ar, por meio de uma pêra de Richardson adaptada ao tubo de vidro (a), no interior do reservatorio (A). A vaccina eleva-se no tubo (b) e passa para a buretta, ficando assim iscado o syphão (btc).

Uma pinça, collocada no tubo de borracha (t), impede que o syphão funccione constante e ininterruptamente. Feito isso, protege-se o tubo de vidro (e) por meio de um funil molhado (f), que o preserva contra as poeiras. Afrouxando-se a pinça collocada no tubo (b'), o liquido sahe pela extremidade aberta do tubo e é recebido em frascos adequados esterilisados.

A mensuração da vaccina se faz, graças ás divisões existentes na buretta B.

Sempre que se tiver de fazer passar a emulsão

vaccinica de A para B, deve-se antes agitar fortemente o frasco A e recolher na buretta, de cada vez, apenas uma pequena quantidade do liquido, que deve ser immediatamente distribuido, afim de evitar-se a precipitação dos corpos microbianos.

Com o fim de permittir a agitação da vaccina, é que são ligadas as duas partes constitutivas do apparelho por tubo de borracha.

Para fazer passar a vaccina de A para B, basta, apenas feita a agitação do reservatorio (A), afrouxar um pouco, até encher-se a buretta (B), a pinça applicada ao tubo (t), depois de ter quebrado a extremidade do tubo (d), anteriormente fechada á lampada, afim de permittir a circulação do ar na buretta.

Para enfrascamento da vaccina são utilisados pequenos tubos de vidro, apresentando um gargalo. Antes de serem utilisados, são obturados com uma rolha de algodão e esterilisados.

A distribuição da vaccina deve ser feita n'um aposento em que o ar não seja agitado.

Os tubos são sellados á lampada, logo após a distribuição. Cada tubo recebe 2 c.c. de vaccina, nos quaes acha-se contida a dose vaccinante de corpos microbianos, segundo a dosagem ponderal das culturas e a proporção da diluição préviamente feitas.

Cada frasco de vaccina é entregre ao consumo, acompanhado de outro egual, contendo cerca de 3 cc. de sôro anti-pestoso, sendo ambos envolvidos n'um papel com os seguintes dizeres:

« *Instrucções para o emprego da vaccina anti-pestosa*

(Processo da Comm. allemã)

A vaccina deve ser empregada nas seguintes doses:

— 23 —

Homem robusto.....	2 c.c.
Senhoras.....	1 c.c.
Creanças de 5 a 10 annos..	1/2 c.c.
Creanças até 5 annos.....	1/4 c.c.

Os tubos de vaccina contêm uma dóse para homem: 2 c.c.

Antes de ser utilisado, o tubo deve ser fortemente agitado.

A vaccinação deve ser precedida do exame medico do paciente, o qual deve versar sobretudo na verificação do estado de funccionamento dos apparelhos organicos encarregados da destruição e eliminação das toxinas.

Em épocas epidemicas, convém proceder-se á immunisação pelo sôro vaccinico, injectando-se simultaneamente com a dóse de vaccina apropriada 2 a 5 c.c. de sôro anti-pestoso.

Os individuos que estiverem em contacto com os fócos pestiferos devem receber a inoculação preventiva do sôro (5 a 10 c.c.), a qual confere uma immunidade immediata.

Technica da vaccinação.— A vaccinação se faz por injecção hypodermica da vaccina. A injecção deve ser feita, de preferencia, sob a pelle dos flancos, após cuidadosa desinfecção da região. Emprega-se uma seringa de Roux esterilisada por meio de ebullição prolongada durante 30 minutos. Após agitação da vaccina, passa-se a extremidade afilada do tubo n'um chamma de alcool. Com uma pinça, préviamente passada na chamma, quebra-se a extremidade do tubo soldada á lampada, e, inclinando-se o frasco, assim aberto, introduz se em seu interior a agulha da seringa, começando a aspiração do liquido pelo fundo do tubo. Injecta-se a vaccina sob a pelle e

protege-se depois a picada da agulha com um pouco de collodio.

A vaccinação é seguida de alguns phenomenos, que se caracterisam pela dôr no ponto inoculado, máo estar, acceleração do pulso e um pouco de febre.

A immunidade só se estabelece 10 a 12 dias após a vaccinação».

A vaccinação anti-pestosa tem tido seus detractores e seus apologistas extremados. Para esclarecimento da questão, procuraremos apresental-a pelo seu verdadeiro lado, apontando as vantagens e os inconvenientes do processo, e, sobretudo, procurando estabelecer, de um modo claro, as suas indicações e contra-indicações.

Uma das objecções mais sérias de que é passivel a practica da vaccinação anti-pestosa, em quadra epidemica, é que a immunidade por ella conferida só é obtida no fim de alguns dias (8 a 12) após a inoculação. E, o que é mais grave, que no periodo de pre-immunisação, o individuo torna-se mais sensivel á peste do que os não vaccinados, como cabalmente demonstraram Calmette e Salimbeni (19), e como tambem tivemos occasião de verificar experimentalmente.

Mesmo que não tivessemos o arrimo da experimentação, que, no caso, é decisiva, facil seria comprehender o facto á luz do raciocinio. E, sinão, vejamos:

Admittamos, para facilitar o raciocinio, a existencia de duas hypotheses.

1ª—No organismo do vaccinando já existe o microbio da peste (peste em incubação).

— 25 —

2ª — No organismo do vaccinando não existe o microbio da peste, mas o individuo acha-se n'um fóco epidemico e está, portanto, sujeito ao contagio.

Na primeira hypothese, o organismo acha-se em lucta contra um agente microbiano, que o ataca com a arma dos microbios : a toxina. Todos os elementos de defeza estão em acção. Vaccinando esse individuo contra a peste, nada mais fazemos que intervir com um sério contingente em favor do microbio invasor, pois, injectando uma vaccina que encerra toxina, introduzimos com ella uma dóse toxica, que virá forçosamente augmentar a já posta em acção pelos bacillos invasores. Assim, diminuimos a resistencia do organismo, i. é. favorecemos a erupção da molestia, que, talvez, pudesse ser evitada, graças aos recursos naturaes do organismo. Estes poderiam ser sufficientes contra a dóse de toxina existente: mas, em virtude do accrescimo de toxinas trazidas pela vaccina, podem tornar-se deficientes.

Na segunda hypothese, observa-se a reciproca dos factos acima referidos. Por occasião da infecção, o organismo recem-vaccinado prepara-se para a immunisação contra a peste; os phagocytos travam conhecimento com a toxina pestosa e por ella vão sendo influenciados : E' a meiopragia do systema de defeza, que se exteriorisa, apenas, pelo que se convencionou denominar reacção:—*hyperthermia, fraqueza, inappetencia*, etc.,—quando o vaccinado é homem são. Ora, tal economia, recebendo o bacillo pestoso, que produz toxinas que se vêm addicionar á inoculada por occasião da vaccina, cede ; não póde resistir ao embate do novo contingente adverso e então explode a peste.

Eis porque se nos afigura contra-indicada a vaccinação haffkiniana, em pleno paroxysmo epidemico.

— 26 —

Mas, contra esses factos, têm sido oppostos casos de individuos vaccinados pelo methodo de Haffkine em épocas epidemicas, os quaes, quando affectados de peste, tem-na mais benigna que os não vaccinados. Esses casos, que constituem as pedras angulares dos argumentos fornecidos por aquelles que defendem a vaccinação *á outrance*, nas épocas epidemicas, verdadeiras espadas de dous gumes, pódem tambem servir de argumento contrario ao fim que almejam os que delles fazem uso.

Com effeito, taes casos podem caber perfeitamente em qualquer das hypotheses que aventámos: No organismo inoculado podia já existir o microbio da peste, em tal estado de attenuação, que seria incapaz de produzir um ataque da molestia, ou, quando muito, poderia determinar um ataque de peste frustra ou ambulatoria. Mas, o accrescimo da toxina vaccinica veiu tornar menos resistente esse organismo, e então poude assim exteriorisar-se uma infecção, que, talvez, não se manifestasse, sem esse accrescimo de toxina. A' dose innocua da toxina existente no organismo addicionou-se dose, tambem innocua, da toxina vaccinante, e a somma das duas quótas toxinicas foi apenas sufficiente para produzir um caso benigno de peste.

Na segunda hypothese cabe egual argumentação. A um individuo, ao qual se inoculou uma dose innocua e vaccinante de toxina, veiu addicionar-se a toxina proveniente de um bacillo attenuado que infeccionou o organismo e que, por si só, seria incapaz de produzir a molestia; mas, a addição das duas doses toxicas poude produzir um ataque benigno de peste.

Existam embora taes casos, que podem entretanto ser explicados, como acabamos de o fazer, o

que é tambem inconcusso é o facto do apparecimento de casos gravissimos e mortaes de peste. em individuos no periodo de pre-immunisação, consecutiva á vaccina.

Si abandonarmos o processo de argumentação a que temos recorrido, para argumentarmos por comparação, chegaremos ao mesmo resultado.

Por sua composição, a vaccina anti-pestosa póde ser comparada á tuberculina e á malleina. Essas substancias são, como a vaccina anti-pestosa, liquidos que encerram os productos do metabolismo dos respectivos microbios e contêm as correspondentes toxinas ou parte dellas. Quaes as consequencias da injecção de tuberculina ou de malleina em individuos affectados de tuberculose ou de mormo, são por demais conhecidas, para que sobre ellas insistamos; são as reacções que exteriorisam uma aggravação das lesões dos tuberculos.

Essa aggravação é proporcional á dóse de substancia empregada, a ponto de se poder transformar uma molestia local n'uma geral. Assim, a tuberculose pulmonar ou outra fórma de tuberculose local póde generalisar-se, dando logar á granulia, em consequencia da injecção da tuberculina. Esses factos se observam em virtude do mesmo mecanismo que descrevemos, em tratando da vaccina anti-pestosa, i. é: addição de novas quótas de toxina á secretada pelos microbios já existentes.

Tem-se objectado, como fez o prof. Terni (20), que ninguem lembrou-se até hoje de condemnar a vaccinação contra o carbunculo ou a vaccina contra a variola em épocas epidemicas. Não nos parece acceitavel a comparação feita pelo illustre professor italiano, que, assim argumentando, compara quantidades heterogeneas. Quando se faz a inoculação da vaccina anti-pestosa, da tuberculina ou da malleina,

introduz-se no organismo toxinas em estado actual, i. é: toxinas já elaboradas e que, por si só, seriam capazes de produzir, em maior dóse, uma intoxicação. Quando se procede ás chamadas vaccinas pasteurianas, introduz-se no organismo toxinas em potencial, i. é: inocula-se uma cultura *viva* de microbios capazes de evoluirem no ponto da inoculação, produzindo certa quantidade de toxinas, que só então irão actuar sobre o organismo, desafiando a especificação de certas propriedades physiologicas dos phagocytos. O mesmo se dá na vaccinação contra a variola. A differença é, pois, capital: a vaccina anti-pestosa é uma vaccina chimica, ao passo que as demais vaccinas a que nos referimos (anti-carbunculosa, anti-variolica, etc.) são vaccinas vivas.

Nas vaccinas pelos virus vivos a producção da toxina se faz lentamente, *pari-passu* com o desenvolvimento local da cultura attenuada, ao passo que, na vaccina anti-pestosa, introduz-se, n'um momento dado, no organismo, a dóse maxima de toxina, capaz de produzir a immunidade, sem causar uma molestia grave.

Em resumo: nas vaccinas pasteurianas, as toxinas immunisantes formam-se no proprio organismo, no ponto de inoculação; nas vaccinas pelo methodo Ferran-Haffkine, inocula-se de uma só vez uma quantidade notavel de toxina, já elaborada fóra do organismo, a qual, na especie, é a dóse maxima. Nas vaccinas pasteurianas não ha saturação da economia pela dóse innócua maxima da toxina: a immunisação é a consequencia de um estimulo pequeno, porém, constante e prolongado; nas vaccinas Ferran-Haffkine dá-se, n'um momento determinado, a saturação da economia, pela dóse maxima supportavel da toxina, de modo que,

nesse momento, o organismo está por tal modo saturado, que a menor parcella de toxina addicionada póde romper o equilibrio instavel existente e a molestia declarar-se.

Isto posto, comprehende-se que seja innócua a practica das vaccinas pasteurianas nas quadras epidemicas, o que não póde ser admittido para a vaccina anti-pestosa, attentos os argumentos que acima expendemos.

Não se extranhe o facto de compararmos a vaccina contra a variola com as vaccinas por virus attenuados. Além de ser a idéa da identidade da vaccina e da variola consentanea com os principios geraes da immunidade, as experiencias de Haccius (21) e de Heim (22) são muito suggestivas, não fallando dos trabalhos modernos de Funck (23), segundo os quaes a variola e a vaccina não seriam mais que modalidades de virulencia de um mesmo virus.

Essa idéa da identidade da variola e da vaccina (que não é mais que uma variola attenuada), já hoje tornou-se uma questão incontroversa, e ainda agora assim se pronunciou Lister, no ultimo Congresso sobre a tuberculose, reunido em Londres, de 22 a 26 de Julho de 1901 (24).

Em apoio da practica da vaccinação anti-pestosa *nas quadras epidemicas*, o illustrado prof. Terni lembrou tambem o tratamento anti-rabido pelo methodo de Pasteur, que consiste, como se sabe, na inoculação do virus de actividade crescente, n'um organismo que já recebeu, pela mordedura do animal hydrophobo, uma dóse mortal desse mesmo virus.

O mecanismo pelo qual se obtem a immunidade nesse caso, ainda não é conhecido; mas, parece que o methodo tem por fim produzir a educação rapida dos phagocytos contra o virus rabido, que caminha lentamente, em marcha centripeta, partindo

dos filetes nervosos existentes no ponto de inoculação e indo em procura das cellulas nervosas centraes.

No periodo de cultura latente da raiva nos troncos nervosos, ou em alguns dos filetes que constituem esses troncos [Roux (25)], os leucocytos, desconhecendo ainda o virus rabido, não se approximam do ponto em que evolue vagarosa, mas, progressivamente, a cultura virulenta, que, poupando os elementos vivos que encontra em sua trajectoria centripeta, vae em busca das cellulas mais nobres dos centros nervosos. Pelo tratamento pasteuriano procede-se á educação especifica dos phagocytos, que, conhecedores então da estrategia do virus rabido, vão a seu encalço, nos pontos em que sorrateiramente estava sendo cultivado, e ahi neutralisam-n'o, antes que attinja os elementos vulneraveis: as cellulas mais nobres dos centros nervosos. Ora, durante o periodo de cultura latente, o virus rabido acantôa-se nos filetes nervosos e não exerce acção nociva sobre a economia: é como si no organismo nada existisse de extranho. Sendo assim, o tratamento anti-rabido póde ser considerado como filiado ao methodo geral da vaccinação pasteuriana, sendo, portanto, applicaveis ao caso todos os argumentos adduzidos nas linhas pregressas, os quaes cabalmente mostram que tal processo de tratamento não póde ser comparado á vaccinação contra a peste.

Si é verdade o expendido, dever-se-ha condemnar a vaccinação anti-pestosa em quadras epidemicas? Não, absolutamente, e o contrario seria um crime, sob o duplo ponto de vista scientifico e social. Mas, convém que a vaccinação seja feita de accôrdo com os preceitos scientificos decorrentes dos dados acima expendidos.

— 31 —

Não sirva de argumento o facto de se haver procedido de modo contrario, sem dar logar a deploraveis accidentes. O facto de um individuo ter estado em contacto com um pestoso, não implica fatalmente a infecção desse individuo, sobretudo em se tratando da fórma mais commum da molestia (forma ganglionar), em que o doente é pouco infectante. Depois, n'esse caso particular, as estatisticas, para que tivessem algum valor, deveriam jogar com cifras colossaes e muito bem observadas, e só assim poderiam invalidar a experimentação, que, no caso, é decisiva. Si tal se désse, viriam então provar que, nessa questão, o homem comportar-se-hia, no caso, de modo differente dos animaes de laboratorio, sobre os quaes tem sido feitas todas as experiencias, que servem de alicerces ao edificio da vaccinação anti-pestosa.

Nas épocas epidemicas, tratando-se de individuos que tenham estado em contacto com fócos pestosos, convem desde logo proceder a sua immunisação passiva, por meio do sôro, como aconselha Simond (26), ou practicar a vaccinação mixta, pelo sôro-vaccina, segundo o conselho da commissão do *Instituto Pasteur* que estudou a peste no Porto [Calmette e Salimbeni (16), de accôrdo com Camara Pestana e Moraes Sarmento], conselho que foi subscripto por Pfeiffer (17).

Na carencia de sôro, convém isolar-se os individuos durante o tempo maximo de incubação da peste, vaccinal-os pelo processo de Haffkine e conserval-os longe do fóco durante todo o periodo de pre-immunisação, i. é: 10 a 12 dias. Só assim a vaccina anti-pestosa poderá ser usada sem receio.

Mas, o que é verdadeiramente practico e scientifico, é a inoculação simultanea de vaccina e sôro. Embora alguns auctores, como Netter (27), acreditem que esse processo de vaccinação, diminu-

indo a reacção do organismo, traz como consequencia uma reducção no grão da immunidade futura, continuamos a pensar, todavia, que o processo é realmente vantajoso e idemne de semelhante arguição: si a reacção organica diminue, é porque a phagocytose foi estimulada pelo sôro; a digestão intra-cellular se faz com mais intensidade, e esse facto é o sufficiente para habituar os phagocytos á lucta contra o microbio e a toxina pestosos. A diminuição da reacção vem apenas mostrar que a economia não teve necessidade, por si, de activar, de incitar os seus defensores naturaes, cujas propriedades destructivas foram especificamente exaltadas pelo sôro anti-pestoso, sem prejuizo algum da immunisação futura.

Quanto ao facto de julgar-se que a mistura *in-vitro* de sôro e vaccina dá em resultado um producto neutro, inerte, ou, por outra, que o sôro e a vaccina, misturados, neutralisar-se-iam, como os alcalis neutralisam os acidos, não merece contestação, porquanto a escola pasteuriana demonstrou á saciedade que os hemo-sôros therapeuticos não actuam como *anti-toxinas*, propriamente ditas, i. é: como neutralisantes chimicos das toxinas, mas como «*estimulinas*», i. é: como estimuladores especificos do poder phagocytario das cellulas organicas: o sôro não actua, pois, neutralisando a toxina pestosa, mas tornando os phagocytos mais aptos a prepararem a immunidade do organismo contra a peste.

As idéas de Beuring (28) sobre a neutralisação chimica das toxinas pelas anti-toxinas (sôros) não podem mais subsistir, depois das experiencias de Buchner (29) e Roux (30), sobre a toxina tetanica e o sôro anti-tetanico: de Roux e Calmette (30), sobre o veneno ophidico e o respectivo sôro: de Wassermann (31), sobre a toxina e a anti-toxina pyocyanicas.

— 33 —

Uma objecção que póde ser ainda apresentada contra a vaccinação anti-pestosa é a que se estriba no facto de que não deve ser de todo destituida de perigo a practica da vaccinação nos individuos que apresentarem certas lesões organicas.

Com effeito,—conhecida a natureza da vaccina, que é um material onde existe uma substancia toxica, capaz de matar, em pequena dóse, animaes de laboratorio,—facilmente se comprehende que a sua applicação não póde ser feita em individuos doentes, do mesmo modo que em individuos hygidos. Sobretudo, merece especial attenção o estado de funccionamento dos apparelhos organicos, prepostos á destruição e eliminação das toxinas. Comprehende-se facilmente que um individuo, apresentando uma meiopragia renal ou hepatica, não póde resistir do mesmo modo que um individuo hygido á acção das toxinas. E' intuitivo que individuos,— ainda sob a influencia de alterações consecutivas a molestias anteriores, como por ex: a febre amarella, que attingem profundamente orgãos importantes (rins, figado), deixando-os em estado de inferioridade physiologica,— soffram accidentes mais ou menos graves, em consequencia da introducção na economia de uma toxina, como a pestosa, a qual constitue o elemento activo da vaccina de Haffkine, ou de qualquer de suas modificações.

Outrosim, o estado de funccionamento cardiaco convém ser conhecido, porquanto a toxina pestosa exerce influencia real sobre a innervação do coração.

Esses factos, porém, não constituem argumentos bastantes para a condemnação da vaccina; ao contrario, vêm mostrar que ella póde e deve ser usada, mas, scientificamente, devendo ser manejada sómente de accôrdo com a individualidade physiologica

do vaccinando, que póde, em certos casos muito particulares, apresentar um conjuncto de circumstancias, que até constituam verdadeiras contra-indicações.

Finalmente, deve-se estabelecer que a immunidade conferida pela vaccina é uma immunidade relativa e não absoluta, i. é: o individuo vaccinado fica immunisado contra uma infecção por pequeno numero de microbios, como acontece geralmente, mas não contra infecções quasi-experimentaes. Por essa razão, os individuos que, *ex-vi* de suas profissões, estiverem sujeitos ao contagio em taes condições, devem procurar tornar a sua immunidade a mais completa possivel, o que podem conseguir á custa de inoculações repetidas de dóses progressivamente crescentes de vaccina anti-pestosa.

Este processo deveria ser utilisado systematicamente, porquanto, de accôrdo com o que se observa nos animaes, a immunidade proveitosa só é obtida após inoculações successivas da vaccina anti-pestosa.

Do exposto e a titulo de conclusões, podemos formular as seguintes proposições:

1 — A vaccina anti-pestosa é um recurso de grande valor prophylatico e que repousa em solidas bases scientificas.

2 — De todos os processos de preparo da vaccina anti-pestosa o que reune maior numero de condições favoraveis é o aconselhado pela Commissão allemã.

3 — Em épocas epidemicas a inoculação exclusiva da vaccina, sem o sôro, não é destituida de perigo, porque póde favorecer a erupção da peste.

4 — Em quadras epidemicas deve-se proceder a

sôro-vaccinação, que tem todas as vantagens da vaccina, sem os seus inconvenientes.

5 — A vaccinação anti-pestosa só deve ser feita *após cuidadoso exame medico do paciente. As dóses de vaccina devem ser estipuladas de accôrdo com o estado de integridade physiologica dos apparelhos organicos do vaccinando.*

6 — *Não é impossivel que a vaccinação anti-pestosa possa ser seguida de accidentes, mais ou menos graves, em individuos que apresentem lesões dos orgãos destinados á eliminação das toxinas.*

7 — Uma immunisação segura só póde ser obtida após inoculações repetidas de dóses progressivamente crescentes de vaccina.

DOCUMENTOS EXPERIMENTAES

No correr da exposição que acabamos de fazer referimo-nos frequentemente a factos estribados em dados experimentaes. Vamos agora relatar, de um modo succinto, algumas dentre as experiencias alludidas.

A — 1ª Experiencia

Vaccina Terni - Bandi

Série A — Cob. 2 (N. 2). Ruivo e preto mesclados. Pello curto. Peso 325 grs. Temp. 36°, 7 C.

31 de Julho de 1900. Injectada ás 2 h. 30' da tarde, sob a pelle do abdomen, com 0,5cc. de vaccina preparada no hospital da Jurujuba pelo Prof. Terni.

— 36 —

1 de Agosto. Temp. 37°. Peso 325 grs.

2 de Agosto. Temp. 36°,2. O animal está encolhido e arrepiado.

3 de Agosto. Succumbiu ás 12 h. Meia hora depois procedeu-se a autopsia, cujo resultado foi o seguinte: ganglios inguinaes de ambos os lados augmentados de volume, congestos e envolvidos por uma zona edematosa. Não havia augmento de volume da região (bubão). Pela abertura do animal verificou-se: derramen seroso no peritoneo; intestino delgado ligeiramente congestionado; grosso intestino e recto normaes. Rins sem alteração macroscopica. Figado fortemente congestionado; vesicula biliar distendida por bilis transparente. Baço muito reduzido de volume, de côr normal. Coração com as cavidades distendidas pelo sangue. Pulmões ligeiramente congestionados com ecchymoses sub-pleuraes.

Foi recolhido asepticamente o sangue do coração, com o qual fôram feitas culturas.

Antes da abertura do animal foi punccionado asepticamente o abdomen e colhido o liquido existente na cavidade peritoneal, com o qual foi feita uma cultura. Fôram feitas preparações microscopicas com: ganglios inguinaes, baço, sangue do coração e liquido peritoneal, assim como culturas com: sangue do coração, exsudato peritoneal e polpa do baço.

Tanto as preparações, como as culturas, revelaram a ausencia de qualquer especie microbiana no material examinado.

— 37 —

2ª Experiencia

Vaccina Haffkine, modificada pela Comm. allemã

Série C. Cob. 1 (N. 26). Branca. Pequena mancha preta sobre a orelha esquerda. Marca : fuchsina na cabeça. Peso 290 grs. Temp. 37°,4.

16 de Agosto de 1900. Injectada, sob a pelle do abdomen, ás 6 h. 7' da tarde, com 0,1cc. de vaccina preparada no *Instituto*.

Apresentou-se doente nos dias que se seguiram á injecção, encolhida n'um canto da gaiola, com os pellos arrepiados. Vinte e quatro horas depois da injecção, a temperatura, que estava normal, começou a descer, vindo a morrer o animal em hypothermia, no dia 20 do mesmo mez.

A autopsia revelou lesões analogas ás do animal da 1ª experiencia desta série vaccinica.

Estas experiencias vêm demonstrar que a vaccina anti-pestosa é uma substancia altamente toxica e capaz de matar cobayas em pequena dose. As lesões encontradas são, em geral, as descriptas nas intoxicações pelas substancias pertencentes ao grupo das toxinas.

B — Experiencia

Cobaya n. 60. Côr branca. Marca : fuchsina na cabeça. Peso 262 grs. Temp. 39°.1.

4 de Outubro de 1900. Foi injectada, sob a pelle do abdomen, com 0,16cc. de vaccina preparada no *Instituto*, pelo processo Haffkine, modificado pela Commissão allemã.

Nos dias subsequentes apresentou reacção vaccinica ligeira.

— 38 —

Em 22 de Outubro o animal foi de novo inoculado com 2 cc. de vaccina.

Não apresentando mais alteração alguma da saúde, foi de novo injectado, em 22 de Novembro, com 4 cc. de vaccina.

A 29 de Dezembro achava-se perfeitamente disposto, sendo então inoculado com o germen da peste, em companhia de um animal testemunha:

Cob. vaccinada: A's 2 horas da tarde foi injectada sob a pelle do abdomen com 0,2cc. d'uma cultura, em caldo, de 72 h. do bacillo da peste attenuado.

Cob. testemunha: n. 95. Peso 207 grs. Temp. 8°,9. Injectada sob a pelle do abdomen, ás 2 h. 15' da tarde, com 0,2cc. da mesma cultura inoculada na cobaya vaccinada.

Após os symptomas proprios da peste, a cobaya testemunha succumbiu, a 18 de Janeiro de 1901, de peste bubonica. A autopsia revelou todas as lesões caracteristicas da peste, que foi confirmada pelas culturas.

A cobaya vaccinada nenhum accidente apresentou.

Esta experiencia vem demonstrar que é possivel a vaccinação das cobayas contra a peste. Essa operação é difficil, em virtude da sensibilidade exaggerada manifestada por esse animal, em relação á toxina pestosa, havendo necessidade de proceder-se á vaccinação por meio de inoculações successivas, de dóses progressivamente crescentes.

— 39 —

C — 1ª Experiencia

Vaccina Terni - Bandi

Cob. 2. (N. 16). Mesclada de preto e ruivo. Marcada com violeta na cabeça. Peso 299 grammas. Temp. 37°,1.

10 de Agosto de 1900. O animal foi injectado, bem como a testemunha, com uma cultura attenuada de peste.

Cobaya vaccinada: Recebeu, ás 2 h. 20' da tarde, meia dose de uma cultura em agar, de 24 h., de uma raça attenuada do bac. da peste.

Cobaya testemunha (n. 28): Peso 418 grs. Temp. 38°. Foi injectada mais ou menos á mesma hora, com a mesma quantidade de cultura.

19 de Agosto. Foi encontrada morta a cobaya vaccinada, injectada com peste a 17 de Agosto. A autopsia, as preparações e as culturas ulteriores demonstraram que a causa da morte foi a peste.

23 de Agosto de 1900. A testemunha, inoculada a 17 de Agosto, succumbiu de peste, como foi verificado pela autopsia, preparações e culturas.

Esta experiencia vem demonstrar dous factos: 1° o animal vaccinado no periodo de pre-immunisação contrahe mais facilmente a peste que a testemunha, i.é: a vaccina sensibilisa o animal para a peste durante alguns dias; 2° a vaccina Terni não immunisa em 4 dias, como pretende seu auctor. Verdade é que as experiencias em cobayas não são muito concludentes, no que se refere á immunisação pela vaccina, visto a sensibilidade extraordinaria desses animaes; mas, como todas as experiencias que

fizemos estão de accôrdo nesse ponto e como o prof. Terni empregou tambem em suas experiencias cobayas, julgamo-nos autorizado a aproveitar as indicações que nos forneceram taes ensaios.

D — Experiencia

Cobaya n. 208. Peso 212 grs. Temp. 37°,8. Marca: fuchsina na cabeça. Injectada a 16 de Novembro de 1901, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. de cultura em caldo do bac. da peste, feita a 14 de Novembro de 1901.

Cobaya testemunha; n. 209. Peso 205 grs. Temp. 38°,2 Marca: fuchsina na parte posterior do corpo. Injectada a 16 de Novembro de 1901, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. de cultura da peste em caldo e, sob a pelle do coxa opposta, com 1 cc. de vaccina anti-pestosa preparada no *Instituto*.

Cobaya n. 193. Marca: violeta na cabeça, 190 grs. Temp. 37°,6. Injectada a 4 de Novembro de 1901 com 0,5cc. da vaccina preparada no *Instituto*.

A 16 de Novembro foi injectada, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. da mesma cultura de peste injectada nas cobayas anteriores.

A cobaya n. 208 (testemunha) succumbiu de peste (verificada pela autopsia e pelas culturas) no dia 24 de Novembro, ás 4 h. 10' da tarde.

A cobaya n. 209, injectada simultaneamente com vaccina e cultura da peste, succumbiu de peste (verificada pela autopsia e pelas culturas) nas primeiras horas da noite de 23 de Novembro.

A cobaya n. 193 (vaccinada e depois injectada

com peste) conserva-se viva, não tendo apresentado alteração alguma da saude.

Essa experiencia demonstra: 1° que a vaccina injectada simultaneamente com a peste apressou a morte do animal cerca de 20 horas; 2° que a cobaya, vaccinada e inoculada com peste, 12 dias depois da vaccina, resistiu perfeitamente á infecção, tendo sido, portanto, immunisada.

Contra esta experiencia póde-se apenas objectar o facto de terem sido empregados poucos animaes. Não perde ella, comtudo, o seu valor, porquanto veiu homologar outras feitas em maior numero.

TRABALHO DO INSTITUTO DE MANGUINHOS

PROPHYLAXIA DO IMPALUDISMO

PELO

DR. CARLOS CHAGAS

RIO DE JANEIRO
TYP. BESNARD FRERES — Hospicio, 138
1906

PROPHYLAXIA DO IMPALUDISMO

I

Mosquito

Impressões recentes, de uma campanha prophylatica contra o impaludismo, constituem a base deste pequeno trabalho. E não se veja ahi o intuito de doutrinar ou o de innovar, sinão esse, perfeitamente acceitavel, de registrar factos zelosamente observados, delles aproveitando as illações naturaes. Nestes assumptos, de ordem pratica, os ensinamentos dos livros, sejam dos mais sabios, deixam sempre á margem, esquecidos, pequenos detalhes, cuja importancia só a repetição de experiencias vem salientar. Além de que, nos estudos experimentaes, de regra é surgir, n'uma experiencia repetida, outra verdade a registrar. Dahi algum possivel interesse, certo pequeno, para a aprendizagem que nos proporcionou a pratica de conhecimentos scientificos amplamente sanccionados.

O progredir dos estudos etiologicos tem trazido á hygiene moderna, na prophylaxia especifica das molestias infectuosas, o melhor de seus elementos de acção. Mais uma conquista do laboratorio, no campo da parasitologia, novo ensinamento pratico, applicavel á prophylaxia, que vae assim fugindo do empirismo para entrar no dominio pleno das sciencias experimentaes. E os processos geraes de hygiene, aquelles que traduziam a ignorancia da verdade no contagio das infecções, vão cedendo terreno a prati-

cas especialisadas, expressivas agora de noções etiologicas novas, adquiridas com o determinismo experimental que as torna irrecusaveis.

Entre aquellas noções figura o culicidio, cujo papel epidemiologico constitue uma das mais beneficas conquistas da medicina moderna. Nem paira mais, respeito á importancia deste agente de transmissão das especies morbidas, a divergencia doutrinaria dos estudiosos, ás vezes tão demorada em desapparecer nas verdades que a sciencia vae conquistando. E' que, para varrer daqui a possibilidade de duvidar, existem factos multiplos, de ordem experimental e de ordem pratica, sempre coherentes em affirmar a realidade da theoria. Exemplificam essa verdade a febre amarella e o impaludismo, molestias hoje evitaveis, cujos processos prophylaticos poder-se-hão reduzir a formulas algebricas, de applicação tão positiva quanto o é a daquellas que a mathematica nos offerece.

Exporemos as regras classicas, estabelecidas para uma campanha anti-paludica. E ahi, quando opportuno, traremos os dados de nossa observação pessôal. Necessario é, porém, rapido estudo prévio, no que interessa nosso ponto de vista, dos dous elementos epidemiologicos do impaludismo,—a anophelina e o doente impaludado,— bases da prophylaxia respectiva.

O culicidio transmissor do impaludismo pertence a sub-familia anophelina, que se divide em 13 generos, muitos delles com especies brazileiras. Diversas anophelinas têm sido responsabilisadas, experimentalmente, pela transmissão da molestia; possivel é, porém, e até provavel, dada a identidade de condições biologicas entre ellas, possam todas re-

presentar aquelle papel, na etiologia da especie morbida.

São conhecidas no Brazil as seguintes anophelinas: 2 *cellia* (1) cellia argyrotarsis e cellia albipes; 2 *myzomyias*, o Myzomyia Lutzi e o Myzomyia tibia-maculata (recem-descriptas em Manguinhos pelo Dr. A. Neiva); e 2 *pyretophorus*, o Pyretophorus Lutzi e uma outra especie não descripta, cujos exemplares pertencem ao Instituto de Manguinhos, onde vão ser estudados. Novo genero foi creado, ha pouco, pelo Dr. Oswaldo Cruz, com uma especie brazileira, a mesma a que o Dr. A. Lutz deu a denominação de *Pyretophorus*. Fajardi. Sobre este ponto, para resolvel o, é esperada a opinião de Theobald.

A distribuição destas anophelinas pelas diversas zonas do paiz é pouco conhecida, merecendo a attenção dos pesquizadores. Segundo Golgi predominam no Norte e em todo o littoral representantes do genero *cellia*, especialmente a cellia albipes. Tambem aqui, na cidade do Rio de Janeiro e pontos visinhos, são as 2 *cellia* as especies que mais abundam.

Tivemos opportunidade de fazer colheita de culicidios em Minas Geraes, em pontos diversos do Estado, e alli encontrámos representadas todas as especies brazileiras, excepção unica do Myzomyia Lutzi. Predominantes são naquella zona as duas especies de *pyretophorus* e o novo genero estudado em Manguinhos, e tal é a abundancia destas anophelinas por todo o Estado, que acreditamos sejam ellas as principaes transmissoras do impaludismo nas margens do Rio S. Francisco, onde as epidemias são extensissimas e em

---

(1) Em Manguinhos é adoptada a classificação e a technologia de Theobald.

extremo mortiferas. Nas margens do Rio Itapanhaúm, em Itatinga, onde realizámos nossa campanha prophylatica, encontrámos tres anophelinas: (cellia arg. albipes.) *Cyclolepidopteron medio-punctatum* e o *Myzomyia* Lutzi. Alli predomina o albipes, vindo depois o Myzomyia Lutzi, cuja importancia na transmissão do impaludismo das montanhas, em virtude da evolução delle nas bromelias, vamos em breve salientar, tendo a referir facto curioso.

Tratemos agora da biologia das anophelinas, conhecimento que muito nos interessa e que lastimamos apresente ainda vastas lacunas, maximé a biologia das especies brazileiras. E essa imperfeição de estudos muito importa em prejuizo da prophylaxia anti-paludica, cuja pratica exige noção exacta dos habitos das anophelinas transmissoras, da evolução e das condições de existencia dellas, etc. Ahi está, para apoiar o que dizemos, o valioso auxilio trazido á prophylaxia anti-amarillica pelos estudos, hoje adeantados, relativos ao *Stegomyia fasciata*.

Tratando da biologia das anophelinas, somos forçados a resumir e tocar apenas nos pontos essenciaes. E' que o assumpto, demasiado vasto, bem merece estudo especial. Nem fallaremos da morphologia do culicidio, esperando trabalho nacional sobre este vasto capitulo da entomologia.

Na agua parada, ou naquella de movimento quasi inapreciavel, realiza-se a primeira phase evolutiva das anophelinas. Exigentes, porém, são estes culicidio do meio em que perpetuem a especie, dando preferencia ás aguas claras, providas de materias organicas e, ainda melhor, ás cobertas de vegetação. Distinguem-se, por esse lado, do *Culex*, para quem é satisfactorio qualquer deposito d'agua, seja das mais contaminadas.

— 7 —

Nas regiões pantanosas os fócos de larvas de anophelinas são constituidos, ás vezes, por quasi toda a superficie do solo; naquellas, porém, onde as aguas têm declividade sufficiente, os pequenos corregos mal tratados, de margens cobertas de vegetação que impede o curso regular, determinando infiltrações das bordas e a formação de brejos, constituem os *habitats* por excellencia das larvas anophelinas. Além destes, innumeros outros existem, determinados por todas as condições de terreno que favoreçam a estagnação das aguas.

Um outro meio onde aquellas larvas evoluem, interessante porque explica factos até então paradoxaes, é esse descoberto por A. Lutz e formado pela agua em deposito no interior do receptaculo formado pela invaginação das folhas de certas plantas, especialmente das bromelias. Ahi a agua permanece por muitos dias protegida dos raios solares, servindo para a evolução de culicidios. Ficam assim explicadas epidemias havidas em lugares altos e que, pela obscuridade de um dos elementos, pareciam desafiar a theoria culicidiana.

Lutz encontrou, em ponto elevado da serra do Cubatão, quando ahi grassava o impaludismo, o *Myzomyia* que tem seu nome e se desenvolve nas bromelias, vindo dest'arte eliminar a apparente contradicção do impaludismo das montanhas com a theoria etiologica actual. Tambem observámos uma pequena epidemia de impaludismo n'uma grande serra, a 600 ou 700 metros de altura, em ponto onde parecia impossivel a existencia de culicidios. Causou-nos o facto justa surpreza, desapparecida quando verificámos, na zona, a presença do *Myzomyia* Lutzi. Foi isso n'um dos contra-fortes da cordilheira do mar, onde

a companhia Docas de Santos faz importante installação de electricidade.

Na agua parada depõe a anophelina femea os ovos, geralmente no crepusculo da manhã, servindo-se de vegetaes fluctuantes, para nelles pousar, no acto da postura. Esta comprehende numero variavel de ovos, conforme a especie de mosquito, geralmente de 80 a 150.

Regra geral, estabelecida, é a morte do culicidio, realizada a primeira postura; para as anophelinas, porém, assim não é, sendo possivel a este mosquito desovar duas e mais vezes, no correr de sua vida alada. Tambem, applicada que o fosse ás anophelinas, aquella regra estaria em desaccôrdo com a theoria da transmissão do impaludismo, porquanto, para a evolução exogena do hematozoario, necessario é um praso minimo de 8 dias, menor, na maioria das vezes, do que o decorrido entre a metamorphose do culicidio e a primeira postura.

Para a maturação dos ovos necessita o colicidio de sangue, que é retirado do homem e dos animaes, selvagens e domesticos, por meio de um apparelho sugador perfeito, auxiliado de uma lympha impedidora da coagulação do sangue, que é inoculado no inicio da picada. Esta lympha contém um principio toxico irritante, responsavel pela dôr da picada, e possuindo o poder immunisante das toxinas bacterianas; dahi a maior sensibilidade dos recem-chegados ás picadas dos culicidios, que são mais penosas do que aos habitantes do lugar. Parece haver, no repetir de innoculações, a formação de uma anti-toxina capaz de actuar energicamente no ponto da picada, ahi neutralizando o principio irritante da saliva.

Os ovos das anophelinas distribuem-se ao aca-

so na superficie d'agua, sem formar figuras definitivas, como acontece aos do *Culex*, fracamente adherentes uns aos outros. Têm elles a fórma elliptica, com uma extremidade mais obtusa, convexas ambas as faces: medem geralmente de 0,^{mm}6 a 1^{mm} de comprimento e 0,^{mm}16 de largura, em média geral. São corpos sempre fluctuantes, graças a um apparelho hydrostatico situado na parte mediana, importando a submersão delles na parada da evolução.

Do 2° ao 4° dia, depois da postura, realiza-se a metamorphose do ovo em larva, corpo vermiforme, composto de diversos anneis e medindo ao principio de 0,7^{mm} a 0,9^{mm}, attingindo, quando adultas, de 8,^{mm} a 10,^{mm} conforme a especie.

Apresentam as larvas movimentos muito rapidos, devidos ás palhetas natatorias do ultimo annel abdominal, e nutrem-se activamente de material existente na agua. As larvas das anophelinas são carnivoras e, por isso, servem-lhes de alimento insectos mortos, diversas larvas de coleopteros e de outros culicidios, etc. Na agua do mar ellas não se desenvolvem, embora o façam, segundo alguns auctores, em agua contendo forte proporção do chlorureto de sodio. Nesse particular, podemos trazer o contingente de nossa observação minuciosa. Pesquizámos cuidadosamente, durante mezes, larvas de anophelinas em aguas salobras, nos vastos mangues das margens do rio Itapanhaum, nunca as encontrando, ao contrario do que aconteceu com as larvas do *Culex*.

Facil é distinguir, só pela sua posição, as larvas das anophelinas das de outros culicidios, exceptuadas as de corethrina. Em virtude da ausencia do syphão respiratorio e da posição dos orificios de penetração do ar no 8° segmento abdominal, no mesmo

plano do abdomen, estas larvas conservam-se horizontalmente collocadas na superficie d'agua, ahi respirando, quando as do *Culex* ficam obliquas e as do *Stegomyia* verticaes.

Para tomar alimento as larvas percorrem toda a massa do liquido e vão mesmo ao fundo; tambem o fazem, agora por instincto de conservação, quando a agua é agitada, o que difficulta captural-as. Tambem não é facil a colheita de larvas anophelinas, muito rapidas em desapparecerem, quando nos approximamos dos depositos que as contêm; para fazel-a, usamos de um recipiente collocado na estremidade de uma haste longa, mergulhando-o rapidamente no deposito, procurando de preferencia as bordas delle, onde mais abundam as larvas, adherentes aos vegetaes.

Inimigos em grande numero, diminuindo a quantidade dellas, têm as larvas na agua, contando-se entre elles as larvas de varios coleopteros, as de libellulas, varias especies de peixes, etc; destes ultimos, alguns (entre elles o peixe vulgarmente conhecido pelo nome barrigudinho) são de tanta voracidade que, onde são encontrados, não existe uma larva siquer, conforme largamente verificámos. E eis um benefico processo natural de prophylaxia.

Variavel é a duração da phase larvaria, dependente de varios factores, sendo os mais importantes a temperatura, a quantidade de nutrição do meio e a especie do culicidio. Paradas transitorias verificam-se nesta phase evolutiva, quando defeituosas as condições de existencia, podendo a larva permanecer em hibernação durante mezes. No solo humido, com ausencia d'agua, alguns pesquizadores têm verificado a presença de larvas vivas, aptas para continúarem a evoluir, e salientam esse facto pela ap-

parencia de destruição, possivel, quando simplesmente exgottadas certas aguas estagnadas. Si fôrem favoraveis todas as condições de existencia, a evolução completa das larvas realiza-se n'um praso médio de 8 a 15 dias, nos paizes quentes; sendo possivel, porém, variar muito esse praso, difficilmente fixavel de modo geral.

A phase seguinte, de nympha, tem uma duração de 2 a 5 dias. A nympha apresenta o aspecto de uma virgula e é formada de 2 partes, quando macroscopicamente examinada : uma anterior, mais volumosa e arredondada, composta do thorax e da cabeça; outra posterior, delgada, constituida pelo abdomen. A nympha tem movimentos muito rapidos, destinados apenas a evitar as causas de destruição. Ella não se alimenta, respirando só, por meio dos syphões localisados no pro-thorax. Fixas as nymphas na superficie d'agua, quando opportuna a metamorphose della, rompe-se-lhe horizontalmente o envolucro do thorax, surgindo a cabeça do mosquito e logo após as outras partes docorpo. Uma vez enxutas as azas, o culicidio vôa e tem inicio a phase alada da existencia delle.

As anophelinas habitam, de preferencia, os bosques, abrigadas nas folhas das arvores, nutrindo-se de succos vegetaes e de sangue dos animaes, domesticos e selvagens. Segundo alguns auctores, são estes culicidios capazes de extensos vôos, indo longe, até muitos kilometros do lugar do nascimento, levadas as femeas pela exigencia de sangue. Pensamos de modo diverso e julgamos com a razão aquelles que dizem accidental esse afastamento exaggerado do culicidio dos depositos larvarios. Sinão, como explicar o facto, por nós largamente observado, de que no interior do Brazil, em fazendas, sendo abundan-

tes as anophelinas a 400 ou 500 metros das casas de residencia, estas não são procuradas á tarde pelos culicidios, havendo ausencia absoluta delles no interior das habitações ? Acreditamos que as anophelinas abrigam-se, geralmente, nas arvores proximas dos depositos larvarios, só por excepção afastando-se dalli, levadas pelo vento ou pelas exigencias da alimentação.

E' especialmente no crepusculo que as femeas deste culicidio procuram sangue, invadindo então as habitações proximas e atacando homens e animaes ao alcance dellas. A'quella hora, si alguem estaciona em lugares de depositos larvarios, é vorazmente atacado por centenas de culicidios, sendo curiosa a observação, que fizemos, dos ataques successivos por especies diversas, algumas dellas chegando mais cêdo, quando ainda dia, ao passo que outras só apparecem com a ausencia da claridade. No interior das mattas, onde a sombra das arvores constitue uma meia abscuridade, as anophelinas picam durante o dia; fazem-n'o, porém, de modo menos intenso do que no crepusculo e procuram, de preferencia, as partes do corpo mais abrigadas da luz.

A existencia alada das anophelinas é variavel com diversos factores, sendo delles os mais importantes a temperatura, a alimentação e o congresso sexual. O individuo macho, depois da copula, deixa em breve de existir e a femea realiza 2 ou 3 posturas, que lhe exgottam a vitalidade. Pelo que, poder-se-ha dizer, em média geral, ser de 1 a 3 semanas a vida alada das anophelinas. Mezes, porém, podem as femeas viver, no estado de hibernação, quando muito baixa a temperatura, o que lhes impossibilita o exercicio das funcções vitaes. E permanecem então depois de fecundadas, abrigadas em lugares humidos,

a espera que as condições do meio exterior lhes permittam entrar em actividade e fazer a postura ; por esse processo fica garantida, nas regiões de inverno rigoroso, a perpetuação do culicidio. Entre nós, a hibernação raro será observada, porquanto não temos as baixas temperaturas, prolongadas, que determinam, nos paizes frios, aquelle estado.

A estivação, phenomeno proximo daquelle, é occasionada pelas grandes seccas, quando falta aos culicidios o meio necessario á evolução larvaria. Aqui tambem permanecem as femeas fecundadas, longos dias, até que a volta das aguas lhe facilite desovar. Claro está que este phenomeno, como o primeiro, só se verifica em certas regiões, lá onde as estações são perfeitamente differenciadas, onde a ausencia de chuvas, durante mezes, é absoluta; raro será, portanto, no Brazil.

Outros dados relativos aos habitos das anophelinas virão melhor quando estudarmos a pratica da prophylaxia ; pelo que, passamos a tratar do outro elemento epidemiologico, o doente impaludado, deposito do hematozoario, onde o mosquito vae infectar-se.

II

Hematozoario e doente impaludado

Duplo cyclo evolutivo, endogeno ou asexuado, no sangue humano, e exogeno ou sexuado, no organismo do mosquito, realiza o hematozoario do impaludismo. E a esta noção verdadeira liga-se intimamente a da transmissão da molestia, cumprindo, por isso, bem conhecer o phenomeno, especialmente em certos detalhes, que mais interessam o lado epidemiologico, para dahi lucrar orientação scientifica de valia nos estudos prophylaticos.

A synthese do facto é a seguinte: a anophelina, quando ingere sangue de um doente impaludado, leva, com o liquido nutriente, si ahi existem, as fórmas sexuadas do parasita, aquellas que se denominam gametos, destinados á perpetuação da especie. Os gametos são de dous sexos, realizando-se, no estomago do culicidio, a fecundação das femeas pelos flagellos, equivalentes aos espermatozoides dos vertebrados, emittidos pelos microgametocytos ou gametos machos. De movimentos activos, capazes de deslizarem pela mucosa do estomago, depressa os flagellos encontram os organismos femeas, dando-se então a fusão do protoplasma e da chromatina destes com o protoplasma e a chromatina daquelles. Dahi resulta o zigoto, corpo a principio espherico, de 6 a 7 microm. de comprimento, possuindo tambem movimentos ameboides, que o levam a abrir caminho através ás cellulas epiteliaes da mucosa, enkystando-se nas paredes do estomago.

Microgameto e macrogametocyta são as synonymias respectivas do flagello e do gameto femea.

Os kystos visiveis na face externa do estomago gastam na evolução completa de 10 a 15 dias, não estando ainda fixado o prazo certo. Medem, quando inteiramente desenvolvidos, de 60 a 80 microm. e contém no interior pequenos corpos, de extremidades afiladas, compostos de um grande nucleo cercado de pequena quantidade de protoplasma. São estes os sporozoitos, que, uma vez chegado o kysto á maturação completa, são postos em liberdade, penetrando na cavidade geral do mosquito e sendo levados pela circulação até ás glandulas salivares. E ahi termina a evolução exogena do parasita, sporogonia ou amphigonia. Pela picada do culicidio são os sporozoitos inoculados na circulação do homem, onde invadem as hematias, em cujo interior vão crescer, desde o estadio annular, primeiro deste cyclo evolutivo, até o de shizonto, que representa o hematozoario adulto e dará lugar, quando completamente desenvolvido, á formação do corpo segmentado, ultimo termo de uma geração endogena.

O corpo segmentado é constituido pelos merozoitos, unidades em que se dividiu o shizonto. Pela ruptura do globulo vermelho são elles lançados no plasma, invadindo novas hematias e proseguindo na evolução asexuada.

O praso de desenvolvimento do hematozoario está subordinado á variedade parazitaria, sendo de 48 horas para os parasitas da terçã benigna e da terçã grave, de 72 horas para o parasita da quartã. Na variedade africana, de Ziemann, o desenvolvimento realizar-se-hia num praso de 24 a 48 horas.

Amplamente tratados pelos auctores são outros factos, que silenciamos, relativos á evolução do he-

matozoario; sobre elles já escrevemos alhures, com minudencia, pelo que seria incorrer em repetição para aqui os trasladar. Cumpre sim dizer que, respeito á classificação, continúamos a adoptar o pensar de LAVERAN, BLANCHARD e outros, para quem o hematozoario é especificamente unico, representando variedades da mesma especie os parasitas descriptos pelos pluralistas, como especies diversas.

As razões em que se estribam, unicistas e pluralistas, neste debatido ponto da classificação, já as estudámos tambem e não poderão occupar lugar neste trabalho.

LAVERAN admitte duas variedades para o parasita que descobriu: *hemamœba malariæ variedade magna e hemamœba malariæ variedade parva*. A primeira comprehende os parasitas da quartã e da terçã benigna, a outra sendo constituida pelo parasita da terçã grave, tropical de KOCH ou estivo-outomnal dos italianos.

Typos morphologicos da quartã, da terçã benigna e da terçã grave usamos chamar as variedades de hemamæba productoras do impaludismo; e continúaremos a fazel-o aqui, sem que isso importe em attentado ás regras estabelecidas, satisfazendo assim nossa convicção pessóal sobre o assumpto.

No ponto de vista da prophylaxia, mais que o de todas as outras phases, interessa o estudo da phase sexuada do hematozoario, representada pelo gameto, organismo unico que perpetua no mosquito a especie parasitaria; pelo que daremos mais demorada attenção a esse paragrapho.

Espherica e semi-lunar são as duas fórmas do gameto no sangue humano, apresentando a primeira quando o parasita é do typo morphologico da quartã ou da terçã benigna, a segundo quando da terçã grave.

— 17 —

Os caracteres seguintes, tirados de ZIEMANN, tornam facil diagnosticar a variedade de parasita a que pertence o gameto, tanto quanto o seu sexo:

«*Terçã benigna*: *Gameto macho* do tamanho de uma hematia, com pigmento disseminado e activamente movel, com plasma e chromatina abundantes.

Gameto femea: maior que a hematia, quasi redondo, tendo o pigmento disseminado e immovel, o plasma granuloso e mais escuro que no gameto macho, a chromatina menos abundante e disposta na peripheria.

Quartã: *Gameto macho* mais ou menos das dimensões de uma hematia, com pigmento disseminado e muito movel, plasma pallido. *Gameto femea*: arredondado, quasi 1/3 maior que a hematia, com pigmento disseminado, immovel, plasma granuloso e intensamente corado, chromatina escura e disposta na peripheria.

Terçã grave: *Gameto macho*: semi-lunar, grosseiro, com pigmento disseminado, chromatina abundante, plasma pallido e formação de membrana. Nas formações esphericas, pigmento disseminado, movel. *Gameto femea*: crescente, de fórma mais esbelta, com quantidade menor de chromatina que no macho, existindo esta apenas no centro, cercada de uma corôa de pigmento; plasma com muita substancia de reserva e de colorido escuro. Nas formações esphericas, pigmento central em corôa, pouco movel.

Perniciosa africana (ZIEMANN) *gameto macho* em crescente, muito mais raro que na perniciosa commum. Espheras livres quasi com o mesmo aspecto do parasita da terçã benigna, differindo em ter metade das dimensões, com pigmento sem tonalidade amarello-esverdeada e sem a fórma em bastonete do da terçã. *Gameto femea*: crescentes, tambem muito mais

raros que na perniciosa commum; esphera semelhante aos gametos femeas da terçã, tendo a metade ou 2|3 das dimensões daquelle.»

O gameto representa no sangue humano uma fórma parasitaria de resistencia, quer á defeza natural do organismo, quer á acção destruidora do medicamento especifico; dahi a longa persistencia delle nos individuos cuja infecção não foi zelosamente cuidada desde o inicio, e que, embora livres de manifestações morbidas actuaes, constituem grande perigo, a evitar no intuito prophylatico. Nem isenta de difficuldades é a parte da prophylaxia relativa ao doente infectado, apresentando gametos no sangue, maximé quando estes são as fórmas sexuadas da terçã grave. Estas fórmas resistem, de modo absoluto, no concluir de todos os experimentadores que cuidaram do facto, á acção da quinina; respeito, porém, aos gametos do impaludismo benigno, faltam experiencias decisivas, não realizadas, que nos conste; e algumas que tentámos, quando nos foi opportuno, ficaram demasiado incompletas para merecer referencia.

O gameto não tem a menor acção pathogenica e fôra até aqui considerado como devendo ser destruido no organismo, graças á phagocytose ou á outro meio de defesa natural. Noção nova, porém, vieram trazer as observações de Shaudinn, que verificou a parthenogénése do parasita do impaludismo. Aqui o gameto se divide, no organismo humano, por kariokineze, em duas partes, uma dellas abundantemente provida de chromatina, intensamente coravel, e a outra só contendo chromatina pallida. A primeira portar-se-ha em seguida de modo identico ao shizonto, dando origem a corpos segmentados e a merozoitos, que serão inicio de novas gera-

ções de hematozoarios, de evolução endogena, capazes, portanto, de acção pathogenica.

Dest'arte ficam explicadas as recahidas na molestia, aquelles accessos periodicos, com intervallos longos, até de annos, mesmo quando ausente o individuo de zonas onde pudesse ser admittida a hypothese de recidivas.

Consequencias de grande monta, no que diz respeito á prophylaxia e á intervenção therapeutica, traz ainda este novo conhecimento. Dada a parthenogénése, periodica, dos gametos no sangue e a tendencia dos parasitas em assumirem aqui a fórma sexuada, mais perigosos serão os impaludados, desta categoria, nas épocas consecutivas e pouco afastadas dos accessos, quando haverá, de certo, maior abundancia de gametos na circulação. Dever-se-ha, outrosim, aproveitar o periodo de manifestações morbidas para a intervenção energica com o medicamento especifico, porquanto os parasitas, exceptuados naturalmente os gametos que não tomaram parte na parthenogénése actual, serão agora passiveis de destruição pela quinina.

Infectado o homem pelo impaludismo, estará elle desde logo, ainda no periodo de incubação da molestia e no correr dos primeiros accessos, apto para contaminar o mosquito? Ignorada é ainda a época do apparecimento de gametos, nos casos de primeira infecção, tanto quanto o praso necessario ao desenvolvimento completo de uma fórma sexuada do hematozoario.

Não temos experiencias nossas, concludentes deste facto, e tambem não conhecemos as de outros; dada, porém, a ausencia habitual dos gametos no sangue peripherico de doentes, nos primeiros accessos, ausencia que pensamos ter largamente verificado,

temos mais tendencia a negar que a affirmar o interrogado, acreditando de *absoluta efficacia* o tratamento do impaludado, quando têm lugar as primeiras manifestações morbidas, vantagem de grande alcance na pratica da prophylaxia, porquanto impede o apparecimento de gametos. E ahi está ainda o beneficio maior da intervenção energica e immediata da quinina, que, além de curar mais facilmente, impede que venha tornar-se o doente um elemento de propagação epidemica. Corrobora, de alguma fórma, nosso pensar, a ausencia de epidemias em centros populosos, onde abundam as anophelinas e onde se verificam factos esporadicos de impaludismo. E' que, em taes casos, quando se dão os primeiros accessos, são os doentes medicados pela quinina, de habito applicada para debellar o elemento febre, seja espressivo de não importa que especie morbida. Um exemplo demonstrativo temos á mão, e si quizessemos não pararíamos neste, na cidade de Juiz de Fóra, onde encontrámos, na parte mais habitada, quantidade immensa de anophelinas, tendo ainda sabido da verificação microscopica do diagnostico de impaludismo em alguns, na verdade raros, doentes. Apezar disso, da existencia alli dos dous elementos epidemiologicos, não grassa em Juiz de Fóra o impaludismo, sob a fórma epidemica, como fôra possivel acontecer. Certo o beneficio prophylatico é trazido aqui pela prompta assistencia medica, logo nas primeiras manifestações morbidas, o que impossibilita, talvez, o apparecimento de gametos e, portanto, a contaminação de culicidios.

Importancia immensa têm as crianças, habitando regiões paludosas, para a prophylaxia da molestia. Foi R. Koch quem mostrou primeiro, largamente, a grande frequencia da presença de hema-

tozoarios no sangue de crianças, em todas as idades, na ausencia mesmo de qualquer manifestação morbida apreciavel, ou expressando-se a parasitose de modo destoante do classico nos adultos, pelo que, muita vez obscura a indagações de ordem puramente clinica. Depois que o fez aquelle pesquizador, muitos outros verificaram o facto, hoje sobejamente sabido, do impaludismo latente nas primeiras idades. E justamente insistem quasi todos na frequencia dos gametos, que permanecem por longos annos no sangue das crianças, resistentes a toda intervenção therapeutica, fazendo de taes parasitados grande perigo, porque constituem nelles reservatorios permanentes do hematozoario.

Ed. e Et. Sergent, que têm tratado esse assumpto latamente, no vasto campo a elles offerecido pela Algeria, fazem da proporção centesimal de crianças infectadas o indice endemico de uma região paludosa.

Não exigem estes auctores a presença de parasitas no sangue para considerarem infectada uma criança; percutem ou apalpam o baço e fazem da esplenomegalia o melhor criterio diagnostico, seguros assim da raridade do erro.

Pelo que observámos do facto, somos levado a applaudir o modo de proceder daquelles pesquizadores. Na zona onde realizámos nossa campanha prophylatica havia 11 crianças, em idadedes de dous mezes até 12 annos; todas apresentavam grande augmento de baço, na maioria das vezes apreciavel pela apalpação e sempre pela percussão, não raro tomando o orgam grande extensão do abdomen. Em taes casos, a pesquiza do parasita dava resultados variaveis, sendo negativo ou positivo, no mesmo individuo, em dias successivos. E eram quasi sempre gametos, salvo nos periodos febris da infecção, as fórmas parasitarias

encontradas. Das crianças, a de dous mezes, que mereceu nosso cuidado especial, jámais tivera qualquer manifestação morbida e apresentava satisfactoria apparencia de robustez, sendo nutrida exclusivamente pela propria mãe, tambem impaludada. Nella a esplenomegalia, unico elemento morbido apreciavel, era enorme, attingindo o baço a região umbilical. O exame do sangue foi aqui sempre positivo, revelando gametos esphericos, em quantidade variavel. Esta criança, no correr dos tres mezes de nosso trabalho, foi submettida ao uso diario da quinina, na dose de 10 centigrs. de chlorhydrato, por ingestão, não apresentando, naquelle praso, reacção morbida qualquer, nem tão pouco intolerancia pelo alcaloide.

Muitos adultos observámos tambem, com esplenomegalia e presença ou ausencia de hematozoarios na circulação peripherica. Adoptámos aqui o mesmo criterio que o dos auctores francezes citados e, no intuito prophylatico, considerávamos perigoso todo individuo que apresentasse augmento de baço, embora o exame parasitoscopico actual fosse negativo. E pensamos dever ser esta uma regra geral de prophylaxia anti-paludica : valer a esplenomegalia, n'uma zona paludosa, para indicar o isolamento do individuo, independente de qualquer resultado que possam trazer diversos exames do sangue. Claro fica a exclusão daquelles casos em que a esplenomegalia tenha causa diagnosticavel, outra que o impaludismo.

A razão do nosso pensar é obvia : possivel é um individuo parasitado apresentar ausencia de gametos na circulação peripherica, em exames mesmo repetidos, quando aquellas fórmas de hematozoario fôrem pouco abundantes; e esperar exame positivo, que chegará uma vez, para agir no sentido prophylatico, fôra protelar medidas de urgente applicação.

— 23 —

Com a esplenomegalia o mesmo não se dá; esse é um signal permanente e constitue elemento morbido presente em todos os casos de impaludismo. Seja dito, de passagem, não chamarmos esplenomegalia só aos grandes augmentos do baço, aquelles que tornam o orgam apalpavel sob o rebordo costal ou perceptivel no abdomen: damos a palavra á verdadeira accepção propedeutica e queremos, para a efficacia do criterio que adoptamos, a pesquiza do elemento morbido pela percussão, unico processo capaz de revelar os pequenos augmentos da viscera. Adoptar-se-ha, para percutir o baço, o methodo de Besnier, que para nós é um dos melhores e cuja technica é a seguinte:

Começa-se a percutir, sobre a linha medio-axillar, de cima para baixo, desde o concavo da axilla. Determina-se o ponto em que a sonoridade pulmonar é modificada pela presença, sob o parenchyma, da extremidade superior do baço. Percute-se depois de baixo para cima, sobre a mesma linha, partindo da espinha iliaca e assim ficará determinada a extremidade inferior da viscera. A percussão em linhas convergentes para um ponto situado no meio dos dous extremos anteriores completará os limites da projecção do orgam.

Nas regiões paludosas os reservatorios do hematozoario são constituidos ou pelas crianças ou pelos impaludados chronicos, individuos que apresentam, de quando em vez, incidentes agudos da molestia, conservando-se, nos intervallos delles, em condições de saúde satisfactorias. Nestes a pesquiza do hematozoario, maximé quando feita em épocas afastadas dos accessos, será frequentemente negativa ou revelará a presença de fórmas sexuadas do parasita.

Será conveniente, em taes casos, repetir o mais possivel os exames do sangue e manter o individuo

sob o uso permanente da quinina, sempre diario, no duplo intuito de evitar o apparecimento de accessos e de *surprehender os periodos de parthenogénése dos gametos*.

Por esse meio, e pela protecção absoluta de taes doentes contra a picada de anophelinas, questão de que trataremos em breve, conseguir-se-ha inutilizar um dos dous elementos epidemiologicos da molestia, quasi sempre o mais resistente e que maiores difficuldades offerece á intervenção prophylatica.

Tal regra seguimos, quando praticámos o assumpto, e della colhemos resultados os mais beneficos.

Diversos impaludados chronicos, cuja infecção trazia accessos, frequentemente repetidos, 2, 3, 4 ou mais vezes por mez, fôram submettidos ao uso diario da quinina, na dose de 40 centigrs. de chlorhydrato, durante 3 mezes, além de rigorosamente protegidos das anophelinas. Na maioria delles houve, naquelle praso, ausencia absoluta de accessos; em outros, raros, as manifestações morbidas espaçaram-se consideravelmente e, quando presentes, eram constituidas por pequenas reacções thermicas, de curta duração.

E' verdade que taes infecções eram occasionadas pelo hematozoario do impaludismo benigno, typo da terçã, não nos sendo dada opportunidade de fazer observações identicas respeito ao hematozoario do impaludismo grave, absolutamente ausente da região onde trabalhámos, embora existente em outro ponto distante menos de 6 kilometros dalli.

Muitos dos impaludados que observámos, apresentando gametos esphericos no sangue e grande augmento do baço, poderiam ser considerados como radicalmente curados, no fim de 3 mezes, quanto durou nossa assistencia a taes doentes. E assim pensamos, porque exames repetidos do sangue fôram

agora negativos, a percussão do baço revelando-o ás vezes normal, sempre diminuido, comparativamente ao augmento encontrado no inicio da intervenção prophylatica. E assim afastámos, por esse processo, cuja pratica é indispensavel nos casos identicos, um dos grandes perigos epidemiologicos da zona.

Medidas prophylaticas

Vimos, até aqui, estudando as condições epidemicas do impaludismo, no intuito de bem comprehender e racionalmente executar uma campanha anti-paludica. Os factos expostos, assim de um modo geral, constituem de certo, apezar disso, orientação bastante para o fim que temos em mira, o de referir as regras prophylaticas classicas, addicionando-lhes alguns detalhes praticos, que lucrámos de uma pequena experiencia.

Poder-se-ha synthetisar n'um duplo intuito a prophylaxia do impaludismo: *impedir que o homem doente contamine o culicidio transmissor*, evitar *que o culicidio parasitado infecte o homem são.*

Tal objectivo é seguramente conquistavel pela execução dos processos prophylaticos deduzidos de conhecimentos etiologicos exactos, relativos ao hematozoario e á anophelina. A prophylaxia será, por isso mesmo, *anti-culicidica*, quando applicada ao mosquito, e *germicida* quando á destruição do hematozoario, na phase endogena da evolução delle.

Necessaria, n'um caso particular de uma campanha anti-paludica, a selecção de medidas praticas capazes de proporcionar o maximo de resultados, essa deverá ser a resultante de um estudo minucioso de todas as condições da experiencia, trabalho prévio

essencial e, no geral, aquelle que mais requer cuidado profissional e habilidade technica especialisada.

Será, pois, a actividade do experimentador primeiro applicada ao estudo das anophelinas existentes na zona, campo da experiencia, procurando determinar-lhes as especies e colhendo a maior somma possivel de dados relativos á biologia dellas.

Os depositos larvarios serão cuidadosamente estudados, quer nas relações de distancia entre elles e as habitações, quer para o intuito de escolher o melhor processo de os extinguir, o que exigirá, muitas vezes, noções de hydrographia.

Votar-se-ha demorada attenção ao hematozoario, cujos reservatorios serão pesquizados nas crianças e nos antigos impaludados, e cujos typos morphologicos serão cuidadosamente determinados. Nos infectados serão procurados os gametos, esphericos ou semilunares, tendo maxima importancia prophylatica a presença ou ausencia actual delles. E a periodicidade, si existe, regular, ou irregular, dos accessos de reacção thermica, será indicação tambem necessaria, destinada especialmente a orientar a applicação da quinina.

Afim de determinar o indice endemico da região e no intuito de afastar os elementos contaminadores dos culicidios, será trabalho prévio rigoroso a pesquiza dos casos de esplenomegalia, criterio que adoptamos para o isolamento permanente dos individuos julgados perigosos.

Indispensaveis são ainda conhecimentos relativos ás habitações e á natureza de vida e de trabalho da população a proteger contra o impaludismo. Em dadas condições, uma vez extinctos os reservatorios locaes do parasita, poderão elles chegar de outras zonas, onde grasse a molestia, pelo que deverá essa hypo-

these merecer cuidado, expresso na vigilancia dos recem-chegados.

Taes pesquizas levarão a escolha do methodo prophylatico mais applicavel ao caso particular, excluindo medidas ineffícazes, fazendo adoptar aquellas capazes de proporcionar o maximo de resultados praticos. Cumpre, porém, affirmar a conveniencia de, n'uma campanha anti-paludica, usar do maior numero de processos prophylaticos, porquanto sendo o exito final a resultante das vantagens colhidas na applicação de medidas parcellares, os resultados destas, sejam em bora minimos, serão cuidadosamente aproveitados.

Prophylaxia anti-culicidica.—A prophylaxia anti-culicidica será offensiva ou defensiva, conforme destinada á extincção dos culicidios ou á protecção do homem contra as picadas delles. Na primeira incluem-se todas as medidas que visam ou diminuir, no maximo de possibilidade pratica, os culicidios de uma zona, ou afastal-os do homem de distancia superior ao maior raio de seu vôo habitual.

Os processos que conduzem a taes resultados são os seguintes: 1.º trabalhos de hydrographia sanitaria, destinados a eliminar os *habitats* de evolução dos culicidios; 2.º medidas anti-larvarias; 3.º destruição domiciliaria dos culicidios adultos.

A prophylaxia defensiva comprehende a protecção individual e a collectiva contra as picadas, realizavel a primeira pelos véos, cortinados, etc, e a segunda pela protecção mechanica das habitações.

Estudemos parcelladamente cada um destes processos prophylaticos.

Hydrographia anti-paludica.—Vem de longe, e está contida na propria denominação da molestia, a dependencia entre o impaludismo e a estagnação das

aguas. Verdade é que a sciencia, conhecendo nas aguas estagnadas o *habitat* de evolução das anophelinas e explicando o papel destas na transmissão da especie morbida, veiu destruir a idéa de emanações subtis, miasmaticas ou animadas, em que se expressava erroneamente o maleficio dos pantanos. O principio sanitario, porém, de deseccamento do solo, permanece nas noções modernas e constitue o methodo por excellencia de uma prophylaxia anti-paludica definitiva. Cumpre, porém, especialisar de alguma fórma o saneamento do solo, visando de preferencia os *habitats* das anophelinas, nem sempre constituidos pelas grandes collecções de agua prutefacta, mais pelas aguas limpidas, em pequenos depositos nas margens dos corregos mal tratados, nas depressões do solo occasionadas para fins agricolas, nas vallas de irrigação abandonadas, etc, etc. A drenagem do solo, o escoamento facil das aguas por meio de vallas, a retificação de rios e de corregos, o deseccamento de bréjos e de pantanos, são trabalhos incumbidos á hydrographia sanitaria, á agronomia e á sylvicultura, cumprindo apenas ao medico experimentador oriental-os. Pelo que ficamos dispensado de entrar aqui em detalhes de execução, pertencentes á alçada scientifica outra que a nossa.

Medidas anti-larvarias.—O processo de escolha para extincção de culicidios, de todos o mais pratico e mais efficaz, é certamente constituido pelas medidas anti-larvarias.

Factos existem interessantes, na historia da prophylaxia do impaludismo, em que a destruição de larvas foi a unica medida prophylatica executada. Taes experimentos, e outros similares com a protecção mechanica exclusiva das habitações, visavam, quando a doutrina culicidiana tinha ainda contradictores,

demonstrar praticamente a verdade da transmissão pelo mosquito. Essa medida, porém, para ser unica, exige condições muito especiaes de experiencia, que permittam seja o methodo applicado de modo absoluto, sem a minima falha, com um rigor só realizavel em campo limitado, quando os depositos larvarios offereçam disposição favoravel ao ataque. Raro será possivel, por isso, limitar a medidas anti-larvarias uma campanha contra o impaludismo.

O povoamento das aguas estagnadas pelos inimigos das larvas constitue uma medida prophylatica induzida de phenomenos naturaes. Entre taes inimigos figuram, como mais poderosos, os batracios e os peixes, destes ultimos especialmente certas especies, em extremo vorazes, que serão introduzidas, para ahi se multiplicarem, nas collecções de agua irremoviveis. Entre nós existe o *barrigudinho*, peixe de agua doce dos mais espalhados, facil de ser colhido em grande quantidade e que, sendo ainda dos mais devoradores de larvas, constituirá a especie preferida para tal mistér. Além de que, mesmo entre nós, tem sido esse peixe sobejamente experimentado, com proveito, na prophylaxia da febre amarella. Quanto aos batracios, além de passarem nas aguas uma phase unica de sua existencia, tornando-se depois terrestres, offerecem maiores difficuldades de captura do que os peixes. Muitos outros animaes, vertebrados ou invertebrados, no estadio de larva ou no estado adulto, são grandes destruidores de larvas e nymphas de culicidios; difficil, porém, fôra na pratica aproveital-os.

O povoamento, portanto, das aguas estagnadas pelos peixes, sabidos devoradores de larvas, constitue a 1.ª medida anti-larvaria, processo biologico, si assim podemos dizer. Vêm em seguida os meios chimicos,

multiplos, sendo delles o mais importante a petrolisação, de cuja technica passamos a tratar.

O petroleo, quando espalhado sobre a agua, ahi forma, pela differença de densidade e pelas exigencias de adhesão mollecular, uma camada continua, que isola da atmosphera a massa liquida inferior. Respirando na atmosphera livre, de onde retiram o oxygenio necessario á vida, as larvas de culicidios collocam-se, para tal funcção, na superficie d'agua, onde, si encontram a camada de petroleo, serão asphyxiadas, devido á penetração da substancia nos conductos respiratorios, até as trachéas, e tambem intoxicadas. Acreditaram alguns experimentadores differente o mecanismo da asphyxia das larvas pelo petroleo e outros oleos de fraca densidade; attribuiam-n'o á agglomeração dos pellos e cerdas do apparelho respiratorio, o que determinava a obturação dos orificios de entrada do ar. Tal mecanismo, porém, dada a raridade e pequeno comprimento das cerdas dos orificios terminaes dos tubos respiratorios, parece pouco acceitavel, tanto mais quanto estudos histologicos, realizados em larvas asphyxiadas por diversos oleos, têm mostrado as gottas de oleo no interior dos tubos tracheanos, onde deverão impedir a penetração do ar.

A quantidade de petroleo necessaria á extincção completa de larvas e nymphas tem sido avaliada em 15 ou 20 cc³ por metro quadrado de superficie, quer seja empregado o petroleo bruto exclusivo, quer de mistura, em partes iguaes, com o petroleo purificado, o que torna a substancia mais diffusivel. O tempo necessario á acção do petroleo tem sido avaliado n'um minimo de 45 minutos e n'um maximo de 4 horas para as nymphas de anophelinas, n'um minimo de 1 hora e n'um maximo de 5 para as larvas.

Os depositos de agua a petrolisar deverão ser pré-

viamente preparados, retirando-se a vegetação aquatica do interior e limpando as bordas da collecção liquida, afim de que o petroleo possa occupar a totalidade da superficie, sem soluções de continuidade, que seriam abrigos das larvas. Já referimos a preferencia das larvas anophelinas pelas bordas das collecções d'agua, onde se abrigam aos vegetaes; esquecido esse particular na petrolisação de um deposito larvario, será, muita vez, a medida inteiramente improficua.

Variavel com a extensão e fórma do deposito d'agua, com a disposição regular ou irregular das bordas, etc—será o processo de espalhar o petroleo, não havendo um processo unico para esse detalhe de execução, nem apparelhos modelos, pela perfeição e facilidade de technica.

Conforme os casos usar-se-hão de vassouras imbebidas do liquido, de regadores communs, de bombas varias de aspersão, etc. O petroleo diffunde-se por si mesmo na superficie da agua, sendo apenas necessario que a quantidade delle para um dado deposito seja mais do que a sufficiente para toda a superficie, de accôrdo com a relação acima estabelecida.

Os peixes, os crustaceos, as larvas de coleopteros, e outros inimigos dos culicidios não soffrem influencia nefasta alguma do petroleo, que, não se dissolvendo nem se emulcionando na agua, permanecendo intacto na superficie, deixará imperturbaveis em suas funcções aquelles elementos de prophylaxia natural.

A petrolisação deverá ser realizada periodicamente, de 8 em 8 ou de 10 em 10 dias, porque, sendo o petroleo volatil, depressa os depositos larvarios ficarão desprotegidos e serão contaminados pelas posturas dos culicidios. Quando presente na superficie, o petroleo afugenta, pelo cheiro activo, os culicidios alados, impedindo assim procurem a agua para

perpetuar a especie. Assim realizada, com aquelle praso maximo da periodicidade, a petrolisação impedirá sempre a metamorphose das nymphas e constituirá medida prophylatica excellente.

De execução relativamente facil, essa medida prophylatica é, no ponto de vista economico, uma das mais praticaveis, o que terá, em certos casos, grande importancia. Infelizmente, porém, como dissemos, esse processo tem indicações especiaes e, em relação ao impaludismo, dado o *habitat* frequente das larvas de anophelinas em pequenas collecções de agua, nas margens dos corregos, nos brejos, nas depressões do solo formados pelas pégadas dos animaes ou pelos trabalhos da agricultura, a petrolisação será muitas vezes impraticavel, Em taes casos mais valerá a hydrographia sanitaria, auxiliada pelas outras medidas anti-culicidicas de que trataremos.

Deixamos em silencio varias substancias, empregadas tambem como larvicidas, as quaes, no terreno pratico, quer por exigencias de economia, quer por difficuldades de technica, ficam muto inferiores ao petroleo. E' sabida, por exemplo, a acção destruidora rapida da creolina sobre larvas e nymphas; usal-a, porém, n'uma campanha anti-paludica, fôra um absurdo economico. O mesmo em relação a muitas outras substancias chimicas.

Destruição domiciliaria dos culicidios alados.— Só no interior das habitações é praticavel a destruição dos culicidios alados. E no caso da prophylaxia do impaludismo essa medida tem importancia capital, porque acreditamos mais frequente a infecção domiciliaria da molestia do que a realizada no exterior, pelas razões seguintes: as anophelinas que penetram nas habitações, levadas pelas exigencias da fome, depois de sugarem, repletas de sangue e por isso mesmo

preguiçosas, permanecerão frequentemente no interior das casas, em lugares escuros, digerindo o alimento e a espera da maturação dos ovos. Ahi podem ficar por muitos dias, maximé quando não encontrarem facil sahida ou quando as condições externas de temperatura lhes fôrem menos propicias do que ás do interior das habitações. Haverá tempo, nessa permanencia, para a evolução do hematozoario, tanto mais quanto as anophelinas, não realizando posturas, têm probabilidade de vida mais longa; e será possivel a infecção do homem nas picadas successivas, que têm lugar uma vez digerido o sangue de uma refeição anterior, o que se verifica n'um praso de 48 horas. A relação centesimal de anophelinas contaminadas será maior, por certo, naquellas encontradas no interior das habitações do que nas do exterior, porquanto as primeiras, além de possuirem vida mais longa, pela ausencia de congressos sexuaes e de posturas, só se nutrem de sangue humano, quando as segundas procuram tambem alimento nos animaes, e nellas a morte prematura impedirá muitas vezes a evolução completa do parasita.

Encontrámos referida, n'um recente e interessante artigo de Ruge sobre epidemiolgia do impaludismo, a importancia da infecção domiciliaria, que explica para o auctor alguns factos apparentemente condictorios da theoria actual de transmissão; tal, entre outros, a ausencia de culicidios e a existencia de epidemias «de impaludismo nas estações de baixa tempe atura permanente, facto observado por Schoo no norte da Hollanda.

Em razão dessa idéa, que julgamos verdadeira, torna-se indicada a destruição periodica das anophelinas no interior dos domicilios, de modo a evitar seja realizada a evolução do hematozoario naquellas con-

taminadas, o que limita á 8 dias o espaço maximo entre os expurgos.

E não só nas habitações dasprotegidas, tambem naquellas em que se tenham realizado a protecção mecanica total, a destruição dos culicidios constitue medida de grande monta. E' que, apezar do maior rigor na protecção dos domicilios collectivos, afim de evitar a penetração nelles dos mosquitos, esta realizar-se-ha, certo em proporções pequenas, ou pelas omissões inevitaveis da parte dos habitantes, ou pela habilidade que traz a fome aos culicidios. A destruição, porém, de 8 em 8 dias, impedindo sempre seja realizado o cyclo evolutivo exogeno do parasita, tornará inoffensivos aquelles que tenham illudido a protecção mecanica.

O processo mais efficaz de destruição domiciliaria dos culicidios é constituido pelas fumigações de diversas substancias, especialmente do enxofre, do pyrethro e do tabaco. As duas primeiras são as preferidas, mais o enxofre do que o pyrethro, tanto pela maior energia de acção quanto pela conveniencia de preço. Quanto as fumigações de tabaco,além de só actuarem quan lo applicadas intensamente, deixam no ambiente um cheiro activo, demorado em desapparecer, incompativel com a presença ahi do homem, mesmo muitas horas depois.

A combustão do enxofre dá como resultado o anhydrido sulfuroso, que, sob ser de facil penetração em todos os pequenos esconderijos dos mosquitos, atravessando mesmo as roupas em cujo interior possam elles se abrigar, possue uma acção insecticida das mais energicas, matando os culicidios quasi instantaneamente.

Para realizar o expurgo pelo enxofro ter-se-ha primeiro de obstruir todas as sahidas dos culicidios,

impedindo ainda o escoamento do gaz por meio de toldos collocados sobre o telhado e de papel collado ás janellas, ás tellas metallicas, no caso das habitações protegidas, a todas as pequenas fendas das paredes, etc. Assim poder-se-ha obter o maximo de saturação do ar pelo anhydrido sulfuroso, ficando garantida a morte da totalidade de culicidios. Tem sido avaliada em 8 ou 10 grs. por metro cubico a quantidade de enxofre necessario ao expurgo completo de um ambiente fechado; na pratica, porém, dadas as impurezas da substancia, convirá exceder aquella cifra, empregando sempre de 15 a 20 grs. por metro cubico.

A combustão do enxofre, de mistura com pequena quantidade de azotato de potassio, não offerece difficuldade, usando-se, para realizal-a, de recipientes quaesquer, collocados sobre uma tripeça. O expurgo será feito durante o dia, quando ausentes dos domicilios os habitantes, por espaço de 1 hora. Uma vez retirados os papeis das portas e janellas, depressa o anhydrido sulfuroso diffundir-se-ha para o exterior, deixando livre o ambiente, cujo ar não offerecerá inconveniente algum á respiração.

Tivemos opportunidade de usar methodicamente desta medida prophylatica em habitações protegidas, com resultado, a nosso vêr, muito favoraveis.

Os domicilios que protegemos, por meio de telas metallicas de 1,5 mill. de malha, eram habitados por operarios, cada domicilio por grande numero delles, geralmente descuidados de nossos conselhos prophylaticos, o que tornava deficiente a medida; por outro lado, existia na zona o *myzomyia Lutzi*, anophelina de dimensões muito pequenas que, estamos certo, póde atravessar as telas de 1,5 mill., conforme verificámos no domicilio de isolamentos dos impaludados, sob fiscalisação rigorosa. Nelle, apezar de nossa vigilancia

permanente, encontravamos todas as manhãs diversos exemplares de *Myzomyia Lutzi* e só desta especie de anophelinas, nunca a *Cellia albipes*, a mais abundante na região, o que nos leva naturalmente a crer penetrassem as myzomyias pelas telas. Nos domcilios dos operarios sãos, não obstante o maior zêlo nosso em tornar real a protecção mecanica, diariamente verificavamos a presença de algumas anophelinas, especialmente do *albipes*.

Para invalidar a deficiencia da protecção mecanica, realizavamos expurgos semanaes rigorosos em todos os domicilios, seguro assim de impossibilitar a evolução exogena do parasita, afastando dest'arte o perigo da infecção domiciliaria, a que ligamos importancia maxima nas epidemias de impaludismo.

Cumpre insistir em que os culicidios, penetrando no interior das habitações, levados pela fome, menor esforço applicarão para sahir dellas; e os expurgos, especialmente nos domicilios protegidos e habitados por operarios, constituirão medida prophylatica de muito alcance, extinguindo culicidios provavelmente contaminados.

Medidas Prophylaticas

Prophylaxia anti-paludica defensiva

1.º Protecção individual contra os culicidios.

Nenhum processo existe, de protecção individual contra as picadas de culicidios, realmente efficaz na prophylaxia do impaludismo. Todos os meios usados para tal fim exigem do homem certo grão de cultura, sendo por isso inapplicaveis ás grandes collectividades, onde se encontram individuos, ou incapazes de comprehenderem a technica do meio prophylatico, ou a elle voluntariamente refractarios.

— 37 —

Nem por isso deixa a protecção individual de ter algumas indicações, merecendo estudo o meio de realizal-a.

E' uso tradicional, nas zonas onde ha abundancia de culicidios, procurar o homem afugental-os pelo fumo do tabaco; tal meio, porém, é inteiramente inefficaz, pouca influencia exercendo o tabaco sobre os culicidios, que continúam a perseguir insistentes os fumantes. Nem valerá fumar nos domicilios, para esse intuito, porquanto o afastamento dos culicidios será transitorio, depressa se habituando elles ao cheiro do tabaco.

As uncções protectoras da pelle com diversos oleos de cheiro activo, com pomadas consideradas insecticidas ou substancias amargas, têm sido aconselhadas. Assim tambem as loções de petroleo, de essencia de eucalyptus, de mentho, etc. Taes meios são de todo improducentes.

O uso de véos e de cortinados é aconselhavel e, em certos casos, imprescindivel. Os individuos, que, por exigencias de trabalho, permanecem fóra das habitações além do pôr do sól, só por esse meio livrar-se-ão das picadas infectantes. E, tratando-se de um impaludado, o rigor da medida será extremo, visto importar agora em perigo collectivo essa condição do individuo. Não bastará, porém, á garantia prophilatica, a protecção das partes descobertas; as vestes de uso habitual são facilmente atravessadas pela tromba dos culicidios, sendo por isso illusoria e inefficaz a defeza do rosto pelos véos e a das mãos por espessas luvas. Tornar-se-ia indispensavel usar o homem, em tal caso, vestimentas espessas ou de uma substancia resistente, que os culicidios não pudessem atravessar. E essa condição poderá ser satisfeita nos climas tropicaes, quando o verão obriga á escolha de

roupas leves, pouco espessas, que facilitem a irradiação calorifica? Em individuos de certa cultura e de condição social mais elevada, nos chefes de serviço, nos profissionaes technicos, etc., occupados em trabalhos de engenharia e outros quaesquer nas zonas paludosas, poder-se-á obter a protecção individual contra picadas de culicidios; nos operarios, porém, naquelles pouco confiantes de taes medidas, fôra de má regra confiar nesses meios, certo a fallencia delles.

A protecção pelos cortinados é realizada no interior das habitações e dispensavel nos domicilios protegidos. A existencia, porém, de impaludados n'um dormitorio collectivo indicaria, como uma garantia a mais, o uso de cortinados, sob os quaes estivessem taes individuos rigorosamente collocados, emquanto permanecessem nas habitações.

2º *Protecção collectiva contra os culicidios.*

A protecção collectiva contra as picadas de culicidios é realizada pela defeza mechanica das habitações, por meio de télas metallicas applicadas á janellas e de tambores ás portas.

Vem de Grassi a pratica desse meio prophylatico, por elle realizado na Italia, em experiencia inicial, n'uma via ferrea, com resultados os mais convincentes.

Sambon e Low, enviados da Escola de medicina tropical de Londres, residiram durante mezes de grande intensidade epidemica no meio de pantanos, em Fumaroli, n'uma habitação protegida. Fizeram-n'o como experiencia scientifica e ficaram immunes de impaludismo, embora se entregassem ao trabalho de revolvimento do solo, andassem pelas margens de pantanos, provocassem, emfim, todas as causas reputadas influentes na infecção pelo impaludismo. Só evitavam as picadas dos culicidios, recolhendo-se

á casa quando necessario, antes do crepusculo da tarde, della se retirando depois do da manhã. E trouxeram assim uma demontração experimental do processo, que depressa passou a constituir uma das regras prophylaticas de maior alcance.

Variavel é a technica da defeza mecanica de uma habitação. As télas metallicas, cujas malhas são de 1 e 1/2 millimetro, servirão em muitos casos, quando as dimensões exiguas das anophelinas da zona não indicarem malhas menores. Assim é que, entre nós, naquellas regiões onde só existem cellias e pyretophoros, as malhas de 1 e 1/2 millimetro serão usadas; a presença, porém, de myzomyias exigirá télas de 1 millimetro.

Cuidado especial deve merecer a ventilação das habitações protegidas. As casas, para satisfazerem tal exigencia, serão munidas de vastas janellas e terão, entre a cobertura e a terminação das paredes, um espaço de 40 a 60 centimetros occupado por téla metallica. Nenhuma fenda existirá na cobertura e nas paredes da casa, de modo que se tenha garantia absoluta da impossibilidade de penetração dos culicidios. Os tambores, que serão applicados no exterior das habitações, exigem construcção especial, conforme os casos.

Assim, em barracões destinados a operarios, de cujo zêlo não será dado esperar muito, a solidez dos tambores e o fechamento automatico rapido das portas contituirá condição muito cuidada. Para isso, são necessarias fortes molas de aço e dobradiças poderosas, cujo funccionamento regular será observado. Em taes barracões será de conveniencia, quando possivel, existir uma unica entrada.

Não entraremos em mais detalhes, relativos a defeza mecanica das casas, por ser questão technica especial. Passamos a indicar as condições da pro-

tecção do homem em taes casas, particularisando as regras ao caso, entre nós mais commum, da prophylaxia de um nucleo de operarios, em trabalhos de agricultura, em construcção de estradas de ferro, etc, etc. Dividir-se-á conforme de principio o dissémos, o operariado em 2 grupos, o dos infectados e o dos indemnes, de accórdo com o criterio da esplenomegalia.

Os infectados terão para residencia commum um ou mais barracões protegidos, cuja defeza mecanica rigorosa será indispensavel. Recolher-se-ão antes do crepusculo da tarde e no correr da noite ficarão impedidos de sahir ao exterior. Essa é a regra classica; observações, porém, feitas entre nós mostram a pouca frequencia com que as anophelinas picam no correr da noite, parecendo que só o fazem nas primeiras horas. Si assim fôr, aquella regra poderá ser modificada. Só depois do crepusculo da manhã poderão deixar os barracões. E a realidade absoluta dessa medida, uma das principaes na prophylaxia do impaludismo, será garantida pela fiscalisação directa do medico, que terá sob suas vistas pessôas de absoluta confiança, incumbidas de vigiar os operarios nas obrigações necessarias a este ponto.

Tal medida visa, isolando os reservatorios de hematozoarios, impedir a infecção de culicidios. Dahi o rigor com que deverá ser praticada, constituindo ella uma das maiores garantias de successo na prophylaxia anti-paludica.

Os recem-infectados, logo que tenha logar o primeiro accesso, serão collocados nos barracões dos impaludados, onde permanecerão até a cura completa, verificada pelo exame do sangue.

Um ponto, a nosso vêr, pouco esclarecido, é o da hora exacta em que se torna preciso recolherem-se

os impaludados. O crepusculo *solar* começa geralmente antes do momento em que os culicidios iniciam o ataque ao homem, momento que usamos denominar *crepusculo culicidiano*. Este, conforme verificámos, é variavel de uma região a outra e tambem com as especies de culicidios, talvez devido a condições de temperatura e de luz. Zonas conhecemos nas quaes, ao menos no verão, os culicidios só começam a picar no entrar da noite, quando em outros logares ainda em plena claridade atacam vorazmente homens e animaes. E, sendo assim, muitas vezes serão os impaludados recolhidos uma hora e mais antes da occasião necessaria, o que poderá importar em medida de rigor exaggerado. Como proceder? Procurar conhecer exactamente o crepusculo culicidiano da zona e determinar, de accôrdo com elle, precedendo-o naturalmente de um quarto a meia hora, o momento de recolherem-se os impaludados.

Vejamos como realizar a protecção dos individuos indemnes. Fôra exigencia demasiado attentatoria do bem estar individual obrigar operarios, em estado hygido, n'um clima tropical, sob o dominio de altas temperaturas, recolherem-se ao interior de barracões no crepusculo da tarde. Fatigados do trabalho, reunem-se elles á tarde no exterior das casas, em palestra commum, gozando de uma temperatura relativamente amena. E julgamos vexatoria a medida prophylatica que viesse roubar-lhes aquelle agrado, salvo condições especiaes.

Verdade é que será possivel construir habitações munidas de grandes varandas protegidas, afim de tornar praticavel o isolamento desde o crepusculo. Isso, porém, não é muito pratico tratando-se da prophylaxia de operarios. Para os chefes de serviço, os profissionaes technicos, etc., sim, convirá construir habita-

ções com vastas varandas, afim de garantir-lhes protecção absoluta contra as picadas de culicidios.

Resultará dahi ser indispensavel a protecção mecanica das habitações dos operarios indemnes? Não. Vamos dizer porque: Dissemos pensar, pelos motivos expostos, ser o impaludismo uma molestia essencialmente de contagio domiciliario, sem excluir, comprehende-se, a infecção no exterior. As anophelinas infectadas permanecem no interior das habitações, onde se realiza a evolução exogena do germen e infecção consequente do homem. A protecção mecanica vem trazer o beneficio, nada pequeno, de evitar a infecção domiciliaria. Os culicidios, que, por uma falha qualquer da defeza, tenham penetrado nos barracões, si ahi encontram individuos infectados, contaminar-se-ão e, como não encontram facil sahida, permanecem no interior, em digestão das refeições successivas de sangue que irão fazendo. Não poderão transmittir a molestia a outro homem, porque em taes barracões serão feitos expurgos periodicos, de 8 em 8 dias, os quaes impedirão seja completada a evolução do hematozoario. E só destinada a esse intuito, a evitar a infecção domiciliaria, deve ser realizada a limpeza mecanica das habitações dos individuos indemnes, aos quaes não seja possivel impôr a obrigação de se recolherem no crepusculo.

Não é, bem se vê, uma regra prophylatica idéal; traz, porém, beneficio de tal alcance que deverá ser obrigatoria nas campanhas anti-paludicas systhematicas.

Protecção mecanica rigorosa dos impaludados, de modo a collocal-os inteira e seguramente ao abrigo das picadas de culicidios, habitações dos individuos indemnes em casas protegidas, no intuito de eliminar as infecções domiciliares, eis como comprehendemos a pro-

phylaxia anti-paludica defensiva collectiva, na hypothese que formulámos. Casos haverá em que a prophylaxia defensiva contra as picadas de culicidios poderá ser completa; tanto melhor, seguros serão os resultados. Quizemos encarar o assumpto sob a condição mais frequente entre nós e, praticamente, não sabemos de solução mais racional.

Prophylaxia germicida. — Destina-se a prophylaxia germicida á destruição do hematozoario na phase endogena da evolução delle e tem como resultado pratico: 1° impedir a contaminação dos culicidios, extinguindo os reservatorios de germens; 2° impedir a evolução no organismo humano dos esporozoitos recem-inoculados.

A prophylaxia germicida é realizada pela quinina, medicamento especifico, usado n'um duplo intuito: para curar os impaludados e para tornar immunes os individuos sãos.

Tratamento dos impaludados. — Não nos deterá a therapeutica do impaludismo agudo, naquelles casos curados desde logo, nos quaes não se verificam as recidivas. Estudaremos o methodo therapeutico a applicar nos impaludados com recidivas, visto serem estes os que representam importante papel na epidemiologia da molestia.

As recidivas podem ser divididas em 2 grupos: 1° as que têm lugar pouco tempo (dias, semanas) depois da infecção primitiva; 2° as que se verificam mezes e annos após o primeiro ataque da molestia. Vejamos as indicações therapeuticas nos dous casos.

Duas theorias existem com respeito á causa das recidivas: Segundo Bignami, as recidivas de curtos intervallos seriam devidas á hematozoarios, que, escapando á acção da quinina, multiplicam-se na circulação, durante a apyrexia, até attingirem a cifra nu-

merica necessaria a provocar reacção thermica. As recidivas tardias, de longos intervallos, seriam explicadas pelos hematozoarios retidos no interior de leucocytos, onde poderiam permanecer vivos durante mezes e annos, até que a destruição dos globulos brancos os collocassem de novo em condições de multiplicação. Essa theoria, em absoluta desharmonia com os factos, está em descredito.

Schaudinn, estudando a terçã benigna, verificou a partenogenése dos gametos femeas, phenomeno já observado pelo prof. Grassi com os gametos da tropical. Explica o sabio allemão as recidivas de longos e de curtos intervallos por aquelle phenomeno, harmonisando-se esse pensar com os conhecimentos até aqui adquiridos sobre o assumpto. Essa theoria de Schaudinn, que affirma voltarem os gametos na occasião das recidivas á evolução schizogonica, tornando-se, portanto, sensiveis á acção da quinina, será a base do tratamento especifico. Indispensavel, porém, fôra precisar o dia das recidivas, no intuito de administrar a quinina na opportunidade necessaria para que ella estivesse na circulação justamente quando houvesse ruptura dos corpos segmentados. E esse ponto acha-se ainda obscuro, requerendo novas pesquisas.

Algumas indicações temos na observação do modo de se succederem as recidivas, sendo interessantes neste ponto os trabalhos de Caccini e os de Carducci (1), que servirão de base ao tratamento nos casos das recidivas de curtos intervallos.

Carducci tira as conclusões seguintes de multiplas observações :

Febre estivo-outomnal : 1° a recidiva tem lo-

(1) Atti della Societa per gli studi della malaria—1906.

gar com o maximo de frequencia no 7° dia de apyrexia completa, ás vezes no 8°, raramente no 9°; 2° as recidivas seguintes, quando compostas de um accesso unico, têm logar decorrido um numero de dias multiplo do 1° espaço de apyrexia (2×7, 3×7, etc.); si compostas de muitos accessos, têm logar após um periodo de latencia igual ao primeiro; 3° algumas vezes, raramente, a recidiva salta um periodo; 4° quasi todas as recidivas são precedidas de uma pequena elevação thermica (37°,2, 37°,3); 5° as recidivas são ás vezes constituidas por elevação thermica consideravel; outras vezes a reacção thermica é pequena (37°,8, 38°), possuindo, porém, uma acção anemiante das mais intensas.

Em relação á terçã benigna e á quartã as conclusões do auctor são as mesmas, sendo de notar que nestas fórmas da molestia as recidivas saltem mais frequentemente um e ás vezes dous periodos e que a acção anemiante é aqui menos intensa.

As observações de Caccini são mais ou menos identicas.

De accôrdo com estes dados é possivel estabelecer o methodo de tratamento seguinte, nos casos de recidivas de curtos intervallos:

No 1° dia de apyrexia, após os accessos iniciaes, 1 gramma de quinina; nos 2°, 3° e 4° idem; nos 5° e 6° dias nenhuma quinina; no 7° dia 1 gramma e meia e depois disso 1 gramma e meia nos 11°, 21° e 28° dias, etc.

Assim será continúado o tratamento até que desappareçam os accessos de recidivas. Exames de sangue repetidos acompanharão o methodo de cura, afim de verificar a occasião em que os individuos deixam de ser perigosos no ponto de vista prophylatico.

Tal methodo de cura denomina-se discontinuo e é o racional, mais acceitavel do que o methodo continuo ou quotidiano, no qual doses de 20 a 60 centigrs. de um sal quinico são administradas diariamente.

Maiores difficuldades offerece o tratamento dos impaludados com recidivas de longos intervallos, de mezes e até de annos. Inutil fôra quinisar taes individuos nas phases de latencia da molestia, quer no intuito prophylatico quer no de cura. E' que estudos recentes vieram demonstrar, contrariando a opinião de Koch, ser possivel contaminarem-se as anophelinas nos impaludados em uso de quinina, uma vez presentes no sangue as fórmas sexuadas. Quanto á cura, sabemos serem os gametos da terçã grave inteiramente insensiveis á acção da quinina, parecendo o mesmo acontecer aos das fórmas benignas da molestia. E assim sendo, ter-se-á de esperar os accidentes agudos da molestia para realizar a applicação da quinina. Bem claro está que, si n'um dos periodos de recidiva a totalidade dos gametos voltassem á evolução schizogonica, seria possivel obter a cura pela applicação da quinina em dose sufficiente.

Isso, porém, não se verifica de certo, permanecendo parasitas sob a fórma sexuada, quando outros voltam á schizogonia. São factos estes ainda obscuros, que esperam a attenção dos pesquisadores, e de cujo esclarecimento advirá grande vantagem pratica. (Do que é sabido poder-se-á deduzir a regra de applicar a quinina em doses fortes nos impaludados chronicos, casos de recidivas de longos intervallos, na occasião dos accessos. Claro está a condição perigosa de taes individuos, que exigem cuidado prophylatico permanente.

Applicação preventiva da quinina.— Constitue

hoje um methodo prophylatico universal e de uso obrigatorio em alguns paizes a quininisação preventiva. Casos ha em que, dada a impossibilidade de praticar outras medidas, será esta a unica regra prophylatica, que offerece a vantagem de facil applicação e de absoluto rigor.

Nas travessias pelas zonas paludosas, quer de exercitos em marcha, de commissões exploradoras, de expedições scientificas, etc., este methodo será praticado, bastando, para segurança do resultado, o rigor da execução. Mesmo nas regiões onde se realizam trabalhos permanentes, Mesmo nos nucleos populosos onde grasse o impaludismo, é sempre applicavel a prophylaxia quinica. Realmente, o impaludismo é molestia de paroxysmos epidemicos, dirigidos pelas condições climaticas da região, o que indica o uso da quinina no correr das estações perigosas, com interrupção durante os periodos de acalmia epidemica.

Estes serão aproveitados para o tratamento, tanto quanto possivel radical, dos infectados nas épocas de epidemias.

Tres são os methodos usados na applicação preventiva da quinina ; 1.º— Doses fracas quotidianas (10 a 25 centigrs. de qualquer dos saes) ; 2.º—Doses médias de 2 em 2 ou de 3 em 3 dias, de 30 a 50 centigrs.); 3.º—Doses fortes uma a duas vezes por semana (60 centigrs. a 1 gramma). Qualquer dos tres methodos tem sido largamente experimentado, com resultados favoraveis. Preferimos o 2º methodo, de doses médias, e usamos applicar 50 centigrs. de chlorhydrato ou de bi-sulfato de 3 em 3 dias. Temos experiencia pessôal que garante a efficacia desse processo, si executado com absoluto rigor, sob vigilancia medica permanente. E podemos garantir a inteira innocui-

dade do medicamento assim applicado, inoffensivo a qualquer funcção, não trazendo a menor perturbação digestiva, ao contrario, actuando talvez como aperitivo. Nem sabemos de contra-indicações, sinão rarissimas, á quinina. Estas limitam-se a casos de idyosincrasia nos quaes o medicamento occasiona perturbações variaveis e, ás vezes, de tal intensidade que tornam a medida impraticavel.

Resistencia não pequena encontra a applicação preventiva da quinina entre operarios. Allegam, de regra, ser dispensavel o remedio em estado de saúde ; objectam razões multiplas, attribuem á quinina todas as perturbações organicas que lhes advenham. E só demorada propaganda, ou obrigação disciplinar, poderá levar o methodo a resultado util.

Era nosso intuito, de principio, tratar mais demoradamente esse assumpto, da prophylaxia do impaludismo. Opportunidade, porém, se nos apresenta de realizar novas observações e pesquisas. Dahi o aguardarmos ulterior publicação para outros conhecimentos.

TRABALHO DO INSTITUTO DE MANGUINHOS

PESTE DE MANQUEIRA

OU

CARBUNCULO SYMPTOMATICO

PELO

DR. ROCHA LIMA

Conferencia realisada em Juiz de Fóra e publicada no *Pharol* de 5 de Junho de 1906

RIO DE JANEIRO
TYP. RESNARD FRÈRES — 138, RUA DO HOSPICIO
1906

PESTE DE MANQUEIRA OU CARBUNCULO SYMPTOMATICO

Quando aqui chegou, ha pouco mais de um mez, o orador teve o melhor acolhimento por parte desta Sociedade e sentiu-se desvanecido por vir encontrar em Juiz de Fóra um grupo de collegas que cultivam com amor as sciencias medicas e acompanham com interesse a medicina experimental. Ao ser aqui recebido, com attenções captivantes, foi convidado pelo illustre Presidente para expôr os trabalhos já realizados sobre o carbunculo symptomatico, julgando conveniente, entretanto, aguardar o resultado das experiencias que a commissão ia realizar para depois corresponder a esse amavel convite. Vem hoje desobrigar-se desse compromisso, pois que está já em vespera de seu regresso ao Rio.

Antes, porém, de expôr esses trabalhos, aproveita a opportunidade para agradecer ás pessôas que auxiliaram a commissão: ao Dr. VILLAÇA, que lhe prestou relevantissimos serviços, fornecendo animaes para as experiencias e transformando mesmo a sua fazenda em um vasto bioterio; aos Drs. DUARTE e NAVA, que puzeram á disposição da commissão os recursos necessarios e acompanharam com o maximo interesse as experiencias realizadas; ao Dr. PALETTA, que forneceu com a maior gentileza muitos vitellos para as inoculações e supportou com a superioridade de um homem dedicado á sciencia o prejuizo que teve com um desastre de que o orador vae dar noticia em momento opportuno; finalmente, a todos os collegas que fazem parte deste douta Sociedade, onde foi recebido com honras que o penhoraram sobremaneira.

(*) Exposição feita perante a *Sociedade de Medicina e Cirurgia* de Juiz de Fóra e estenographada por um dos socios.

— 4 —

Quanto aos trabalhos emprehendidos, deve historial-os, fazendo tambem o historico da molestia que constituiu objecto dos mesmos. Ha annos reinava em Minas a peste da manqueira, tambem chamada «mal de anno», que dizimava grande quantidade de rezes, prejudicando enormemente a industria pastoril. Não havia estudo bacteriologico sobre essa molestia; apenas pelos symptomas e exame microscopico havia sido feito o diagnostico pelo Dr. Baptista de Lacerda, que preparou a vaccina de Arloing, Cornevin e Thomas. Si esta vaccina continúa a satisfazer a alguns criadores, muitos são os que a têm abandonado, reclamando outro meio de prophylaxia. Fôram, pois, iniciados no *Instituto de Manguinhos* os estudos completos sobre essa molestia, que grandes devastações fazia no gado em Minas.

Faltava, porém, o material necessario para estes estudos. Foi então que o Dr. Carlos Chagas teve a feliz idéa de collocar o Instituto em relações com o Dr. Villaça, que, com a maior proficiencia, preparou e remetteu para o Rio o material necessario para o exame bacteriologico.

Não bastava o exame microscopico, era necessario procurar isolar e cultivar o germen encontrado e com culturas puras desse micro-organismo reproduzir em animaes a molestia por inoculação. E' esse um dos problemas mais difficeis da bacteriologia desse morbo, porquanto ha alguns germens que por tal fórma se assemelham e sobrepujam o bacillo do carbunculo nas culturas, que muitas vezes são precisos mezes de trabalho constante para se chegar a um resultado seguro. Sobretudo o bacillo do edema maligno — o vibrião sceptico,— por sua extraordinaria semelhança e associação frequente ao germen do carbunculo, constitue a principal causa dessa difficuldade e tem dado lugar a numerosos erros, mesmo em mãos muito competentes.

As primeiras experiencias fôram feitas com um material retirado de animal morto, o que difficultou mais o exame; a estas seguiram-se outras feitas com material retirado de animal ainda vivo e foi conseguido um resultado completo, quanto ao diagnostico da peste de manqueira, tendo sido isolado e cultivado o bacillo do carbunculo symptomatico,

que, inoculado em bezeros, reproduzia sempre a molestia typica.

Verificada com todo o rigor a natureza da molestia, era necessario tratar de obter a prophylaxia della e, para isso, o meio de que se dispõe com mais vantagem é a immunisação dos animaes predispostos, já que não é possivel a desinfecção dos numerosos pastos contaminados, onde os espóros, muito resistentes do bacillo do carbunculo symptomatico, se conservam por muito tempo em completa virulencia.

Como se sabe, a immunisação pode ser passiva ou activa : activa, quando pela inoculação de germens mortos, de germens attenuados, de germens virulentos, mas em quantidade insufficiente para produzir a molestia, ou pela inoculação dos productos secretados por esses germens, se consegue a formação de anti-corpos, que imprimam ao organismo uma resistencia especifica para a molestia ; passiva, quando pela inoculação do sôro de animaes hyper-immunisados activamente se transporta para o animal a immunisar grande quota de anti-corpos existentes no referido sôro.

Um processo de immunisação para ser pratico precisa ser innocuo, efficaz, ser produzido por substancia inalteravel, de facil manejo e de preço relativamente baixo.

A immunisação passiva realiza do melhor modo as duas primeiras condições acima referidas; mas não póde servir para a molestia de que se trata, porque a immunidade assim conferida é de pouca duração, o que acarretaria a necessidade de re-inoculação em prasos muito curtos e de uma substancia relativamente cara. Apezar disso, foi preparado no *Instituto de Manguinhos*, por innoculações intra-venosas em cavallos de grandes quantidades de cultura virulenta do bacillo do carbunculo symptomatico, um sôro muito activo contra a molestia e que foi aproveitado para experiencias de sôro-vaccinação, mais abaixo referidas.

Não podendo ser usada na pratica a immunisação passiva, pelos motivos expostos, tratou-se de estudar a immunisação activa. Para este fim, muitos têm sido os processos propostos pelos investigadores : por Arloing, Cornevin e Thomas foi preparada uma vaccina, entre nós conhecida por

vaccina LACERDA, a qual é constituida por um pó obtido pela trituração do succo de musculos de animal carbunculoso e attenuado pelo calor; esta attenuação é feita em dous gráos diversos, sendo necessario inocular primeiro a mais attenuada e dez a quatorze dias depois a mais forte. Esta vaccina não foi preparada em Manguinhos, pelos seguintes motivos: 1º pela difficuldade de obter substancia sempre identica; 2º impureza do material que se emprega, já pelo facto de provir, não de uma cultura pura, mas de um animal doente, já pelas contaminações durante o preparo e o manejo, porquanto se torna necessaria a trituração pelo inoculador, quasi sempre ignorante dos cuidados de antisepsia; 3º impossibilidade de se obter uma mistura ou suspensão bem homogenea, de modo que é muito frequente dar-se a obstrucção da agulha, cujo menor inconveniente é uma immunisação incompleta; 4º a necessidade da vaccinação dupla, com as vaccinas fraca e forte. ARLOING, que, a principio, julgava sufficiente essa vaccinação dupla, manda hoje repetil-a de 6 em 6 mezes, o que obriga a 6 inoculações durante o tempo em que o gado está na idade de receptividade.

Alguns dos defeitos apontados fôram corrigidos por LECLAINCHE e VALLÉE, que, em vez do succo de musculos, empregavam uma cultura pura feita com sangue colhido asepticamente e, por KITT, que em vez da vaccinação dupla, empregava uma simples inoculação do material aquecido na temperatura intermedia ás usadas por ARLOING, CORNEVIN e THOMAS. Entretanto, não fôram evitados todos os defeitos apontados, razão porque o *Instituto de Manguinhos* procurou preparar uma vaccina que tivesse as vantagens das referidas, sem ter o inconveniente de ser em pó, mas sob a fórma de um liquido em que a substancia vaccinante esteja em estado de pureza e que, mesmo durante a manipulação, não esteja tão sujeita á contaminação.

A vaccina sob a fórma liquida tem sido preparada por diversos experimentadores, que empregaram para esse fim culturas puras em caldo simples, ou *caldo Martin*, attenuadas pelo calor. A inconstancia dos resultados obtidos com essa vaccina não a torna recommendavel e, no caso presente,

o germen isolado em Manguinhos não se cultiva nesses meios. Sob a fórma liquida, tambem foi preparada por GRASSBERGER e SCHATTENFROH uma vaccina constituida pelos productos de elaboração dos germens do carbunculo. Com esta, assim como com as demais vaccinas até hoje conhecidas, tem-se dado em varios logares a verificação, ora da efficacia dellas, ora, e principalmente, a producção de verdadeiras hecatombes, conferindo a molestia por inoculação da vaccina.

Essas vaccinas são de difficil verificação quanto á innocuidade, razão porque a maioria dos auctores aconselha hoje a sôro-vaccinação, fazendo preceder a inoculação da vaccina da injecção, alguns dias antes, de sôro-especifico.

Durante os estudos emprehendidos em Manguinhos sobre a biologia do germen isolado, verificou-se que a cultura em caldo glycosado, addicionado de sôro de cavallo, apezar de muito abundante, differe microscopica e biologicamente das obtidas em caldo addicionado de sangue, onde o germen tem a fórma typica e a espórulação perfeita que se encontra nos cadaveres de animaes carbunculosos. O principal caracter da cultura em caldo-sôro é a completa innocuidade para os animaes de laboratorio e principalmente para os bezerros.

Tratou-se então de verificar si animaes inoculados com essa cultura se tornavam immunes, isto é, si resistiam á dose mortal de uma cultura virulenta. A dose desta cultura virulenta capaz de matar um animal testemunha em 36 horas era tolerada sem a menor reacção pelos animaes que haviam sido préviamente inoculados com a cultura de caldo-sôro. Tinha-se assim encontrado um processo de vaccinação com os requisitos necessarios, apontados no começo desta exposição. Restava, porém, verificar si a immunidade assim conferida era duradoura, si esta vaccina se conservava inalterada por longo tempo e si a innocuidade observada até então não soffria excepções.

Sendo insufficiente o numero de bezerros de que dispunha o *Instituto de Manguinhos*, a maioria dos quaes havia sido gentilmente offerecida pelo governo de Minas, por intermedio do Dr. CICERO FERREIRA, procurou-se ampliar as ex-

periencias e, para este fim, foi remettida vaccina ao Dr Hermenegildo Villaça, que inoculou em 65 bezerros da sua fazenda, sem que observasse outra reacção sinão um ligeiro emmagrecimento consecutivo.

Estes animaes, até a presente data (seis mezes depois da inoculação), se mantêm com perfeita saúde, tendo havido entre os não immunisados alguns casos de peste e até mesmo, experimentados por inoculação, em condições desfavoraveis para o animal, um delles nada soffreu e o outro resistiu durante seis dias á molestia, produzida pela inoculação de fortissima dose de material virulento, que matou os animaes testemunhas em menos de 36 horas. Convém notar que esse processo de verificação foi exaggerado, pois que commummente as verificações por inoculação de material virulento são feitas em praso muitissimo mais curto, praso em que, como foi referido, os animaes immunisados pelo processo de Manguinhos se mostraram sempre refractarios ao mal.

Outras verificações, apezar de feitas seis mezes depois, mas com uma cultura que produzira a molestia em grande numero de bezerros e a morte de muitos delles, deixam patente a immunidade, que ainda perdura nos animaes inoculados pelo Dr. Villaça.

Para completar os seus estudos, o Instituto fez vir a esta cidade a commissão, de cujos trabalhos venho dar noticia.

A primeira idéa era fazer em larga escala a immunisação pela vaccina descoberta, e neste sentido foi preparada grande porção dessa vaccina, pelo processo já referido. A porção de cultura, que havia servido para as experiencias até então, tem a denominação de vaccina 0, e, para as primeiras experiencias em Juiz de Fóra, como esta não bastasse, foi preparada nova cultura, que teve a denominação de vaccina 1. Com esta fôram inaculados, na fazenda do Dr. Palleta, 26 bezerros e, ao contrario do que se tinha o direito de esperar, os animaes na maior parte adquiriram a molestia, succumbindo 8 delles. A nada mais se poderia attribuir este desastre, sinão a que a cultura que constitue esta vaccina 1 não é innocua, como as até então estudadas.

Uma vez verificado isto, tornou-se indispensavel um es-

tudo aprofundado dessa vaccina 1 para verificar a causa da differença dos resultados obtidos e vêr si era possivel evitar essa desigualdade ou si convinha regeitar em absoluto esse processo de immunisação. Emquanto se procedia aqui e em Manguinhos a pesquizas varias para elucidar o assumpto, cujos detalhes alongariam muito esta exposição, foi iniciado aqui o estudo de outro processo de vaccinação : a sôro-vaccinação, não como aconselham os auctores europeus, mas pela inoculação de sóro e vaccinação, instauradas em determinadas proporções ; e este processo já tem sido experimentado em grande escala e com bons resultados pelo Dr. Carlos Chagas, em Oliveira.

A verificação da immunidade feita aqui, em animaes immunisados pela sôro-vaccinação, mostrou que vinte dias depois resistiam bem á inoculacão de material virulento. A duração desta immunidade só póde ser verificada pela observação durante longo tempo dos animaes immunisados.

Neste interim, foi estudado um processo de reconhecimento de sua innocuidade, nas culturas em caldo-sôro, o qual póde ser usado como vaccina. Na verdade, a cultura chamada vaccina 1 tem caracteres que a deixam distinguir facilmente das anteriormente usadas, e o estudo cuidadoso dos caracteres morphologicos, culturaes e biologicos dos germens nas duas amostras de vaccina (0 e 1) nos indicou o caminho a seguir no preparo da vaccina de Manguinhos, e evitar o insuccesso observado na fazenda do Dr. Paletta.

Baseado nestes estudos, foi preparada nova vaccina, que tem-se mostrado innocua até na dose 10 vezes superior (20 c. c.) á commummente empregada (2 c. c.). Não ha, portanto, razão para se abandonar o novo processo de immunisação, mas, ao contrario, convém amplial-o o mais possivel para vêr si se obtem a consagração da pratica ; e, assim sendo, cessa-se a sôro-vaccinação, que não é tão simples como aquelle processo.

Já fôram inoculados com a vaccina de Manguinhos 260 bezerros sem que apresentassem a menor reacção local, mesmo quando inoculados com dose muitas vezes superior á geralmente empregada, e feita a injecção no ponto de eleição

da molestia, os musculos do quadril. Um delles, porém, foi atacado da molestia, de fórma muito intensa, succumbindo em menos de 48 horas depois da vaccinação; não é razoavel que se attribúa á vaccina a producção da molestia neste caso, pois si essa vaccina fosse capaz de produzir a molestia não seria por certo com a intensidade observada, que só é obtida com a inoculação de milhões de espóros virulentos, e ter-se-hia dado o que succedeu na fazenda do Dr. Palleta, isto é, a maior parte ou alguns dos outros animaes teriam reagido, ao passo que nada soffreram os bezerros inoculados ao mesmo tempo. Além disso, a fazenda em que foi feita essa inoculação perde frequentemente animaes de carbunculo symptomatico, e tudo faz crêr que o animal que succumbiu já se achava infectado espontaneamente quando foi vaccinado, e que a vaccina ainda não havia tido tempo de produzir a immunidade. Para corroborar estas considerações póde-se assignalar o facto de terem sido vaccinados 14 bezerros em uma fazenda, não sendo possivel vaccinar maior numero por falta de tempo; esses 14 bezerros não tiveram a menor reacção, e, em menos de 48 horas depois, justamente como no caso precedente, um dos bezerros, dos que não tinham sido vaccinados, morreu de peste da manqueira; estivesse esse incluido no numero dos 14 vaccinados e, por certo, ter-se-ia attribuido á vaccina o mal que não fez.

Emfim, diz o orador, ahi fica exposto o que temos até agora feito quanto á vaccinação contra o carbunculo symptomatico, esperando que a experiencia em grande escala venha confirmar, modificar ou contestar os estudos que temos feito, certos de que o insuccesso teria justificativa e o successo explicação nos esforços que temos feito para, no cumprimento do nosso dever, sermos uteis ao nosso paiz».

(*O orador foi vivamente felicitado pelos collegas presentes*).

Anno XI S. Paulo, 31 de Agosto de 1908 N. 16

REVISTA MEDICA DE S. PAULO

Jornal pratico de Medicina, Cirurgia e Hygiene

Director-Proprietario: Dr. VICTOR GODINHO

Secretarios: Drs. Oliveira Fausto, Theodoro Bayma e Saul de Avilez

Sobre um novo processo de vaccinação contra o carbunculo symptomatico

Memoria apresentada ao Sexto Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurgia

PELOS DRS.

ALCIDES GODOY e FARIA FILHO

Sobre um novo processo de vaccinação contra o carbunculo symptomatico

Memoria apresentada ao Sexto Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurgia

PELOS DRS.

ALCIDES GODOY e FARIA FILHO

O presente trabalho contem factos que foram estabelecidos no Instituto de Manguinhos no correr do anno passado, por um de nós em collaboração com o Dr. Rocha Lima, em estudos comparativos feitos com o fim de verificar o valor dos differentes meios de protecção dos bovideos contra o carbunculo symptomatico, e em Minas Geraes, quando em commissão e em companhia dos Drs. Rocha Lima e Carlos Chagas, estabeleciamos o valor da vaccina que experiencias de laboratoio nos havia feito preferir. O estudo mais aprofundado da nossa vaccina, a technica do seu preparo em grande escala, as pesquizas tendentes ao julgamento de um dado producto como vaccinante, etc., foram por nós continuados este anno.

O carbunculo symptomatico é com certeza a zoonose mais importante, entre as que infectam os campos de creação do Estado de Minas Geraes, pelos prejuizos que causa. E' uma molestia peculiar aos bovideos, raramente acommettendo as ovelhas. Molestia infectuosa aguda é causada pelo desenvolvimento nos tecidos muscular e conjunctivo de um microbio anaerobio («bacillo Chauvoei», «bacillo carbonis»), ella é conhecida entre nós sob denominações diversas: «peste da manqueira», «mal de anno», «quarto inchado», etc.

Não foi, que tenhamos noticia, feito entre nós nenhum estudo bacteriologico, apenas o Dr. J. B. de Lacerda diagnosticara a molestia pelos exames clinico e microscopico e iniciára a immunisação segundo o processo Arloing Cornevin e Thomas com vaccina por elle preparada.

O material de que nos servimos para estudos foi enviado ao Instituto pelo Dr. H. Villaça e devido a instancia do Dr. Carlos Chagas, sendo colhido um animal espontaneamente atacado e enviado nas melhores condições possiveis. Um bezerro inoculado com o succo de um fragmento do musculo recebido succumbira, tendo apresentado um carbunculo typico; deste animal foi isolada a nossa primeira amostra de carbunculo symptomatico, tendo havido desenvolvimento de colonias sómente nos tubos de agar a que haviamos addicionado sôro de cavallo. O isolamento foi obtido segundo o processo de agar em camadas altas de Veillon-Liborius. O carbunculo symptomatico naquellas condições se desenvolve *de um modo inteiramente especifico.*

O diagnostico do carbunculo symptomatico é extremamente simples e póde ser estabelecido por dados clinicos, necroscopicos, microscopicos, ou epidemicos. A invasão rapida, quasi subita, o estado febril no inicio, a hypothermia no fim da molestia, a abolição do appetite, o apparecimento de uma tumefacção dura, que cresce rapidamente e que vae se tornando depressivel, emphysematosa e tympanica, o caracterisam. A' inspecção o vitello morto pelo carbunculo mostra-se tumefacto, a pelle achando-se distendida por gazes; seccionada a pelle na séde da lesão especifica escapam-se bolhas de gazes de um odor butyrico; o tecido conjunctivo mostra-se infiltrado de um liquido vermelho-escuro, outras vezes simplesmente seroso, e sempre acompanhado de innumeras bolhas gazosas. Pelo exame de frottis de succo de musculo verifica-se a presença nos pon-

tos em que a molestia se desenvolveu de bastonettes curtos, raramente longos, isolados, moveis, sendo o corpo microbiano ora homogeneo, ora vacuolisado; os bastonettes são cylindricos, fuzifórmes ou ellipticos (clostridios), as extremidades desses elementos são sempre arredondadas, e se a autopsia não é feita logo após a morte encontram-se formas esporuladas, o esporo não tendo séde de predilecção. Os clostridios são coraveis pelo iodo em castanho ou pardo-escuro, não temos porém observado a coloração azul ou violeta de que fallam os autores. A molestia ataca exclusivamente os animaes de 6 mezes a 2 annos de edade, dos accommettidos rarissimos se salvando. Os animaes doentes não transmittem a molestia, que tem o seu apparecimento regularmente periodico.

O bacillo do carbunculo symptomatico é de difficil cultura se não se observa nas culturas successivas o uso de sementes obtidas somente em meios privados de glycose e que possuam um grande numero de esporos. O meio tem na cultura deste microphyta a maxima importancia, assim é que, como meio de escolha para a sua cultura, têm sido propostos os seguintes: caldo Martin (Leclainche e Vallée), agar com pequenos pedaços de musculo esteril em suspensão ou caldo com lactato e carbonato de calcio (Grassberger, e Schattenfroh), sôro de boi ou decocto de carne (Duenschmann), sôro ou sangue (Kitt), etc.

E' aos meios addicionados de sôro que damos preferencia. Assim empregamos conforme o fim da cultura agar simples ou glycosado, caldo simples ou glycosado, a que addicionamos uma parte de sôro para tres de caldo ou agar. Quando desejamos um desenvolvimento ainda mais abundante ajuntamos ao caldo simples-sôro cerca de $^1/_{20}$ de sangue desfibrinado. Em gelatina com ou sem glycose da-se o desenvolvimento de pequenas colonias arredondadas que liquefazem lentamente o meio. *Em agar-sôro as colonias são typicas, apparecendo como espheras perfeitamente regulares, grandes e de aspecto nebuloso, tendo o centro marcado por um ponto mais escuro. Estas colonias são caracteristicas e servem para o diagnostico rapido do carbunculo symptomatico.* A nossa amostra sob que temos toda a garantia de authenticidade não vegeta seguidamente em meios privados de gelatina ou sôro. Os meios liquidos são recobertos de uma camada de 2 centimetros de espessura de vaselina liquida; este simples meio tem-se mostrado sempre sufficiente para manter as condições de anaerobia no meio de cultura.

Por dois processos podemos tornar refractario a uma dada infecção, um animal sensivel, ou pela inoculação no seu organismo de germens vivos ou mortos ou productos por elles formados nos meios de cultura (immunisação activa) ou pela inoculação do sôro de um animal assim tratado (immunisação passiva). Na pratica o primeiro é preferivel não só por ser a immunidade conferida mais duradoura como mais economico.

O estudo da immunidade no carbunculo symptomatico teve ponto de partida nos trabalhos de Arloing, Cornevin e Thomas. A vaccinação tem sido obtida pela inoculação de pequenas dóses do liquido do edema ou do succo do musculo em natureza em região pouco sensivel ou após attenuação pelo calor, ou antisepticos; pela injecção de culturas attenuadas; pela inoculação de cultura ou material virulentos combinados com immune-soro; ou pela inoculação de productos formados nas culturas; ou pelas toxinas só ou combinadas com sôro especifico, etc.

No processo de Arloing, Cornevin emprega-se succo de musculo virulento secco e attenuado pelo calor. Preparam-se duas vaccinas; a primeira é obtida pelo aquecimento a 100-104° durante 7 horas, a segunda a 90-94° pelo mesmo espaço de tempo. Depois de ligeira trituração são os pós fornecidos ao consumo. Estes pós são mais finamente pulverisados e inoculados na dóse de um centigramma por animal, de preferencia na cauda; a segunda sendo injectada 12 a 14 dias depois da primeira.

Kitt e Nörgaard preparam uma vaccina attenuando o succo de musculo pelo calor humido a 98-109° (Kitt) ou 94-94° (Nörgaard).

Thomas aconselha introduzir debaixo da pelle da cauda ou da espadua um fio embebido de succo virulento secco.

Leclainche e Vallée indicam um processo de preparação de vaccinas em pó; para isso semeam sangue de cavallo com sangue do coração de cobaya morta de carbunculo symptomatico e após liquefação do meio este é desseccado em placas estereis e sujeito ao tratamento aconselhado por Arloing.

Kitasato foi o primeiro que observou a attenuação de culturas pelo envelhecimento e mostrou que ellas eram immunisantes,

outro tanto observando com cultura aquecida a 80°.

Leclainche e Vallée retomaram a questão de immunisação por meio de culturas puras. Pelo emprego do caldo Martin obtêm culturas muito virulentas, culturas essas que pelo aquecimento a 70° diminuem consideravelmente de virulencia. Os animaes inoculados com essas culturas resistem á injecção de culturas virulentas, d'ahi deduzem um methodo de vaccinação por meio de duas inoculações: a primeira vaccina sendo a cultura aquecida a 70° graos durante duas horas, a segunda cultura em natureza. Julgaram os autores que uma só inoculação seria sufficiente. A pratica em maior escala veio mostrar que o processo podia não ser inocuo. Em trabalhos posteriores Leclainche e Vallée expõem os resultados obtidos e que levou-os a doptar a soro-vaccinação.

Grassberger e Schattenfroh propõem a immunisação por meio de misturas neutras de toxina e antitoxina. Os trabalhos destes autores sobre a toxina e antitoxina do carbunculo symptomatico ainda não receberam confirmação. O processo, pondo de lado a questão da immunisação com toxinas compensadas, ainda é passivel das seguintes objecções: falta de regras fixas para a obtenção da toxina, *da propriedade de serem toxigenas não ser geral*, e além disso a quantidade a inocular em cada animal é demasiado grande 15-30 cc.

Passemos agora ao estado das culturas de carbunculo symptomatico em meios com glycose, sobre que se baseia o nosso methodo de vaccinação, assumpto principal deste trabalho.

Desde o começo do nosso estudo verificamos a inocuidade das culturas em meios glycosados, e não era pela addição de sangue, que conseguiamos culturas virulentas. Verificando que os animaes inoculados com as culturas avirulentas tornavam-se immunes, pensamos desde logo na possibilidade de utilisal-as como vaccinas. O estudo das culturas em meios glycosados e nos privados desse assucar, nos mostraram a razão de ser do modo differente de se comportarem em relação á virulencia.

A cultura em caldo glycosado sôro se faz a 37° com a viva fermentação, traduzida por uma forte producção de gazes. A cultura no fim de 48 horas no maximo cessa inteiramente, os germens depositando-se o liquido torna-se perfeitamente transparente, formando-se um deposito branco amarellado, mucilaginoso. Pela agitação o deposito emulsiona-se completamente, sedimentando-se lentamente quando o tubo de cultura é deixado em repouzo. O oleo de vaselina que recobre o meio toma uma côr verde amarellada.

O exame microscopico d'uma dessas culturas, ainda em plena vegetação, mostra bacillos finos, de extremidades arredondadas, de plasma ora homogeneo, ora vacuolisado, observando-se ainda a existencia de bacillos mais grossos, assim como de formas filamentosas longas e delgadas. Não é raro encontrar-se clostridios. Muito pouco microbio possue mobilidade. Nas culturas em inicio os germens tomam o Gram, mas á proporção que a cultura continúa vae diminuindo a proporção de individuos que assim se comportam. Os esporos são muito raros e o meio torna-se fortemente acido.

Um facto se observa desde logo: é a fraca vitalidade dessas culturas, pois difficilmente se obtêm resementeiras com ellas, comtudo se se faz a sementeira nas primeiras 24 horas de cultura a vegetação continua. Experiencias feitas nos mostraram que meios de cultura que contêm para mais de 0,5 de glycose se portam do modo acima descripto, a quantidade de glycose sendo abaixo da acima indicada a cultura se approxima do typo da cultura em caldo simples-sôro.

Em caldo simples-sôro a cultura é de aspecto muito mais regular, nella se desenvolvendo somente bacillos perfeitos, que chegam quasi todos a esporular. Os microbios são muito moveis neste meio e coram-se uniformemente pelo Gram.

Influencia da glycose sobre a cultura do carbunculo symptomatico

Cultura	A	B	C	D	E	M
Meio	glyc.	glyc.	simpl.	simpl.	simpl.	simpl.
N°. de esporos por cc.	300	260	300000	2150000	30000	250000
Reacção em cobayas inoc. com 3cc.	0	0	morte	morte	vivaz.	morte

Do exame do quadro acima resulta que as culturas em caldo glycosado são sempre pouco ricas em formas vegetativas e avirulentas, emquanto que as feitas em caldo simples são sempre muito ricas e virulentas quasi sempre: temos ainda que o numero de 30.000 por cc. provoca forte reacção sem determinar a morte. Muitas outras experiencias nos mostraram que a virulencia de uma cultura terminada a vegetação, quando

semeada com um mesmo material é dependente do numero de esporos que ella contem.

Chamamos a attenção para o facto das culturas em caldo glycosado não serem tornadas virulentas pela addição de acido lactico ou por meios desviadores da phagocytose, taes como carmim e hematias, etc., nem pela addição do liquido claro de uma cultura virulenta centrifugada, o que faz crer que não seja a ausencia de qualquer substancia chimiotactica negativa ou a intensa phagocytose que se segue á sua inoculação que as torna avirulenta, antes cremos que seja devido ao pequenissimo numero de formas vegetaveis, incapazes de crearem um foco infeccioso.

As culturas virulentas não perdem essa propriedade pelo aquecimento a 57° durante $^1/_2$ hora e a conserva pelo espaço de mezes, o que ainda indica que essa propriedade reside nos esporos.

O estudo do chimismo dessas culturas seria interessante para explicar o mechanismo pelo qual a glycose inhibe a esporulação. Ücke e sobretudo Hibler assignalaram o facto da pequena producção de esporos em meios com assucar ou glycerina, attribuindo-a ao meio se tornar pela vegetação muito acido. Grassberger e Schattenfroh egualmente observaram a fraca esporulação nos meios glycosados. A não esporulação não nos parece dever ser referida á producção de acidos, pois ella se observa mesmo após addição de carbonato de calcio ao meio de cultura.

Como já dissemos, é possivel conferir a immunidade pela inoculação dessas culturas. A immunidade adquirida pelas cobayas contra a inoculação de culturas virulentas não é absoluta, sendo que pela inoculação de prova ellas succumbem em proporção de 20 — 50 %. Nos bovideos a immunidade é muito mais solida, pois não tivemos ainda nenhum que, tendo sido inoculado com culturas avirulentas, não resistisse á inoculação de prova, que matava testemunhas em 2 a 3 dias.

Não podemos terminar esta parte do nosso trabalho sem chamar a attenção sobre o possivel, se bem que raro, desenvolvimento atypico das culturas em caldo glycosado-sôro, desenvolvimento que se caracterisa pela vegetação nesse meio como se ahi não existisse assucar. As culturas assim obtidas são virulentas como demonstra o desastroso ensaio de immunisação que fizemos na Fazenda do Dr. Constantino Palleta, em Juiz de Fóra, facto ja referido em communicação á Sociedade de Medicina e Cirurgia de Juiz de Fóra, e publicado no Brazil Medico pelo Dr. Rocha Lima. Em 26 vitellos inoculados nessa occasião morreram 8. Evidentemente essas culturas são imprestaveis para a vaccinação.

Em relação ao mechanismo da immunisação, só podemos dizer que a phagocytose representa aqui um papel de maxima importancia. A reabsorpção dos germens inoculados faz-se por intermedio dos leucocytos, o que é caracterisado pela intensa phagocytose que se segue a vaccinação. Se os esporos introduzidos germinam ou não, não podemos ainda dizer com segurança, entretanto é mais plausivel a segunda hypothese, visto ser impossivel pela inhibição da phagocytose determinar-se o apparecimento da molestia. A vaccinação contra o carbunculo symptomatico provoca, com certeza, o apparecimento nos humores dos animaes vaccinados de substancias analogas ás substancias bacteriotropicas de Neufeld ou opsoninas de Wright. Sobre o poder bactericida do sôro dos animaes assim tratados não temos ainda experiencias seguras.

Transcrevemos agora os resultados obtidos por alguns dos creadores que têm empregado a nossa vaccina e tiveram a bondade de nos informar dos resultados.

O Sr. Tertuliano Braga, fazendeiro em Guarany (Minas Geraes), communica-nos que dos 69 vitellos que vaccinamos na sua fazenda, nenhum adquiriu a molestia e dos 5 que deixamos de vaccinar 2 morreram, o que o levou a vaccinar os 3 restantes.

O Sr. Orosimbo de Castro, fazendeiro em Tartaria (Minas Geraes), inoculou 126 vitellos e deixou de inocular 2 que morreram algum tempo depois de carbunculo, sendo de notar que os vaccinados conservaram-se indemnes. Faz-nos notar que a perda annual por carbunculo era de 40 — 50 % dos vitellos.

Da mesma zona, o Sr. Henrique R. da Silva Castro fornece-nos as notas seguintes: antes da vaccinação a mortalidade era de 7 — 8 %, em 1.369 vaccinações que fez não observou accidente nenhum consecutivo a ellas. Em um lóte de 126 vitellos guardou 2 sem vaccinar, morrendo estes mezes depois. Os vaccinados nada soffreram.

De varias outras observações do mesmo genero concluimos que a vaccinação póde ser feita mesmo nas zonas mais contaminadas sem perigo e que uma só inoculação permitte aos animaes atravessarem indemnes a edade de maior sensibilidade.

Não tivemos ainda um só caso em que se responsabilisasse a nossa vaccina por accidentes ou perdas de animaes inoculados. Sendo já de muitos milhares o numero de vaccinações praticadas a coincidencia da vaccinação com o accommettimento da molestia foi 2 ou 3 vezes observado, esta coincidencia é expressa pelo facto da morte do animal se ter dado 24 a 48 horas após a vaccinação, emquanto que pela inoculação mesmo das culturas as mais virulentas só obtemos a mórte no terceiro dia da molestia.

O numero de dóses fornecidas pelo Instituto foi em:

1906	11.510
1907 (até Agosto) . .	16.276

neste total de 27.780 não estando incluido o grande numero de dóses que empregamos a titulo de experiencia.

Julgamos util para facilidade da reproducção dos factos acima referidos dar algumas indicações sobre o preparo da vaccina. A vaccina contra o carbunculo symptomatico, fornecida pelo Instituto de Manguinhos, é uma cultura do bacillo symptomatico obtida em caldo glycosado-sôro, o soro entrando na proporção de 1/3 ou 1/4. O caldo é preparado pela maceração a quente de 500 grs. de carne em 1 litro d'agua a que se addiciona 10 grs. de peptona, 5 grs. de sal commum e 20 grs. de glycose. O meio é alcalinisado um pouco alem do ponto de neutralidade do tournesol. O soro é colhido segundo a technica habitual, pela sangria aseptica de cavallos. As culturas são feitas em balões de 2 litros de capacidade, sendo o meio recoberto simplesmente de vaselina liquida para que se dê a vegetação. A sementeira é feita com uma cultura, evidentemente verificada quanto á pureza e muito rica em esporos, os balões semeados são collocados na estufa a 37° onde se deixa terminar a vegetação, cerca de 48 horas. Terminada esta, procede-se á verificação em relação á pureza, á abundancia, á riqueza em fórmas vegetativas, á virulencia, etc., sendo, então, se se verifica que os seus caracteres correspondem aos de uma cultura typica, distribuida em vidros de 10 cc., fechados a lampada, que são rotulados e acondicionados em caixinhas de madeira depois de envolvidos na seguinte bula:

Instrucções para o emprego da vaccina contra a peste da manqueira

A vaccina é fornecida sob a fórma de um liquido turvo, que clareia pelo repouso, formando-se um deposito branco amarellado.

Nos frascos fechados, em que é fornecida, a vaccina conserva-se inalterada por muitos mezes. Aberto, porem, um frasco deve o conteudo ser usado no mesmo dia.

A vaccina deve ser empregada por injecções debaixo da pelle, na dóse de 2 cc. Não se deve empregar dóse menor do que esta. Nesta dóse a vaccina é completamente inocua e, antes de ser fornecida, é experimentada em animaes do Instituto, empregando-se dóses muito maiores do que a acima indicada. Só póde haver accidentes em animaes que, na occasião da injecção, já se achem atacados da molestia, embora sem os symptomas.

A vaccinação deve ser repetida de 5 em 5 mezes, fazendo-se a primeira inoculação quando o bezerro tem 5 mezes de idade.

Modo de usar:

Agitar o frasco.

Partir a sua extremidade afilada.

Introduzir, pela abertura assim obtida, a agulha de uma seringa propria para injecções, e aspirar a vaccina. Expellir voltando a seringa para cima o ar que tenha penetrado na occasião de aspirar.

Lavar com uma solução de creolina o ponto de inoculação, que é de preferencia o quadril.

Immobilisar bem o animal. — Introduzir a agulha sob a pelle cerca de 2 a 3 centimetros e inocular a dóse acima indicada, isto é, 2 cc. que correspondem á quinta parte do conteudo de cada frasco.

A vaccina traz um numero e uma data que devem ser indicados em qualquer communicação ou reclamação. Estas devem ser dirigidas para o *Instituto de Manguinhos. — Caixa do Correio 926 — Rio de Janeiro.*

Conclusões

1 A vaccinação por meio de culturas é a unica possivel de uma verificação scientifica.

2 As colonias em agar-glycosado-sôro são typicas e servem para o diagnostico rapido do carbunculo symptomatico.

3 As culturas de carbunculo symptomatico em caldo glycosado-sôro são avirulentas.
4 As formas microbianas ahi existentes são inaptas á vegetação.
5 O estado refractario ao carbunculo symptomatico é facil de ser conferido.
6 A immunisação dos bovideos é mais facil que a das cobayas.
7 As propriedades vaccinantes das culturas dependem da massa microbiana ahi existente.
8 A inocuidade dessas culturas é independente da existencia de substancias chimiotacticas negativas.
9 A vaccinação no carbunculo symptomatico por uma substancia absolutamente inocua, é certamente realisada pela inoculação de culturas typicas em caldo glycosado-sôro.
10 São responsaveis pelos casos de carbunculo symptomatico consecutivos á vaccinação, o methodo de preparo da vaccina ou o processo de vaccinação.
11 A virulencia de uma cultura de carbunculo symptomatico terminada a vegetação é no mesmo meio e com a mesma semente dependente do numero esporos.
12 A immunidade adquirida pelos vitellos vaccinados é sufficiente para que elles atravessem indemnes a epoca de maior sensibilidade.
13 Uma unica inoculação é sufficiente para conferir a immunidade.

Rio de Janeiro, 4 de Setembro de 1907.

Anno XI S. Paulo, 31 de Outubro de 1908 N. 20

REVISTA MEDICA DE S. PAULO

Jornal pratico de Medicina, Cirurgia e Hygiene

Director-Proprietario: Dr. VICTOR GODINHO

Secretarios: Drs. Oliveira Fausto, Theodoro Bayma e Saul de Avilez

SUMMARIO

Sobre o cyclo evolutivo e a transmissão do hemoproteus culumbae

PELO

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

Trabalho do Instituto de Manguinhos

Ha cerca de um anno, continuadamente nos occupamos com o estudo deste assumpto que já serviu de motivo a duas curtas publicações, anteriormente feitas (1), e justifica o presente trabalho no qual apresentamos, mais detalhadamente, os resultados até agora obtidos.

Depois dos trabalhos de Labbé e Mac Callun sobre os parasitas do genero hemoproteus, durante muito tempo, estiveram estacionarios os nossos conhecimentos sobre taes protozoarios, pois todas as pesquizas feitas com o fim de desvendar-lhes o cyclo, assim como obter a sua transmissão directa ou por meio de um hospedeiro intermediario, não lograram successo muito apreciavel.

Neste ponto estava a questão, quando, em 1904, o apparecimento do memoravel trabalho de Schaudinn, (2) sobre as gerações alternantes, veiu de novo chamar a attenção para o problema que, naquella epoca, se afigurou, desde logo, definitivamente resolvido, tal a precisão e meticulosidade com que os factos eram apresentados.

Não tardaram mesmo a apparecer confirmações ao trabalho de Schaudinn, por parte de alguns pesquizadores, entre ellas salientam-se as dos irmãos Sergent, (3) se collocando em identicas condições ás daquelle sabio, e de Billet, (4) que, evidentemente influenciado pelas ideias dominantes na occasião, assignalou relações de alternancia entre trypanosomas e hemogregarineas.

Apezar, porém, destas primeiras confirmações, desde logo surgiram fortes contestações ao trabalho de Schaudinn principalmente por parte dos eminentes sabios americanos F. Novy e W. Mac. Neal (5) que se tem esforçado, constantemente, por demonstrar que as gerações alternantes não possuem uma existencia real, e nada mais são do que o producto da confusão dos cyclos respectivos, dos dois hemosporideos da *athene noctua*, com o dos trypanosomas da ave e do mosquito dado como hospedeiro intermediario dos parasitas.

Ainda em recente publicação, aquelles autores, conjunctamente com Torrey, (6) de novo voltam á questão que, como nos trabalhos precedentes, abordam magistralmente, justificando os seus argumentos, com as mais cuidadosas provas de laboratorio.

A nossa contribuição pessoal á questão das gerações alternantes foi, desde ao co-

(1) Dr. Henrique Aragão. Sobre o cyclo evolutivo do halteridéo do pombo. Nota preliminar. Brazil Medico 15-4-07, 2.ª nota Brazil Medico, 15-8-07.

(2) F. Schaudinn. Generations und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XX. H. 3-1904.

(3) Sergent, Edm. et Et. Hémamibes des Oiseaux et Moustiques. C. R. Soc. Biol. Paris T. 58 n.º 2, 1905.

(4) M. A. Billet. Sur le Trypanosoma inopinatum de la grenouille verte d'Algérie et sa relation possible avec les Drepanidium. C. R. Soc. Biol. Paris, T. 57, n.º 27, 1904.

(5) Fred. Novy and W. Mac. Neal. On the trypanosomes of birds. Journ. of Infect. Diseases. Vol. 2, n.º 2. 1905.

(6) F. Novy. W. Mac. Neal, and H. Torrey. The trypanosomes of mosquitoes and other insectes. Journ. of Infec. Diseases, Vol. 4 n.º 2, 1907.

meço, absolutamente contraria á realidade das phases assignaladas para o cyclo dos protozoarios do genero hemoproteus que, por occasião do apparecimento do trabalho de Schaudinn, tentamos, sem o menor successo, reproduzir e observar, nos utilisando de pombos infectados com hemoproteus e de culex fatigans; tanto, porém, na ave como no mosquito, não conseguimos verificar as transformações trypanosomicas do hemosporideo. Sem tirar qualquer conclusão do resultado destas pesquizas deixamos então o assumpto que retomamos ha cerca de um anno, resolvido, então, a fazer delle um estudo minucioso, aproveitando o explendido material de que dispunhamos, pois todos os nossos pombos, sem excepção, se apresentam infectados pelo hemoproteus.

Obedecendo a este objectivo foi nosso primeiro cuidado verificar quando e de que modo tinha logar a infecção da ave. As pesquizas nesse sentido foram unanimes em evidenciar que a infecção era adquirida muito cedo, durante os primeiros tempos da vida da ave, pois os filhotes ainda implumes, apanhados nos ninhos e creados no laboratorio, ao abrigo da picada de qualquer animal sugador, apresentam parasitas no sangue ao cabo de um prazo de incubação de 20 a 30 dias. O inicio da infecção é assignalado pela invasão das hematias da ave por numerosissimos pequenos anneis muito semelhantes aos observados em algumas especies de hemosporideos.

Verificada com toda certeza que a infecção da ave tinha logar nos ninhos, começamos a procurar qual o hospedeiro intermediario que poderia ser inculpado de vehiculador do parasita. Desde logo nos convencemos que tal papel não cabia aos mosquitos, pois estes insectos não eram absolutamente encontrados nos pombaes. Nestes, o unico animal sugador sempre presente, ás vezes em grande numero, é a lynchia brunea ou lividicolor, Oliv; hippobocidea muito commum sobre os pombos adultos e principalmente sobre os filhotes quando começam a emplumar.

Convencido de que só a lynchia poderia desempenhar o papel de transmissor do hemoproteus, por exclusão de qualquer outro vehiculador provavel, começamos a pesquizar nella qual a evolução soffrida pelo protozoario, não conseguindo senão acompanhal-a até a phase do cokineto, o que já era conhecido pelas verificações de diversos pesquizadores, anteriormente feitas. Todas as tentativas com o fito de descobrir phases mais adeantadas da evolução do parasita, no insecto, foram absolutamente infructiferas.

Este resultado longe de nos demover da ideia de que as lynchias desempenhassem, de facto, o papel de transmissoras da infecção, ao contrario, nos levou a pesquizar se a evolução do parasita, interrompida no insecto, não continuaria no organismo da ave em que este inoculasse o protozoario, por occasião da picada, como parecia demonstrar o periodo de incubação longo da da infecção, a abundancia dos parasitas e, principalmente, a sua morphologia que fazia prever a origem delles em uma forma de divisão mais ou menos semelhante á dos outros hemosporideos.

As primeiras pesquizas feitas com o intuito de uma tal verificação não nos deram os resultados esperados, depois, porém, com a continuação das observações, começaram a apparecer casos favoraveis, em que nos foi possivel descobrir no pulmão da ave, e somente neste orgão, as diversas phases da evolução de um protozoario que desde logo, com quasi certeza, reconhecemos pertencer ao hemoproteus.

Ao mesmo tempo que faziamos estas verificações, os irmãos Sergent demonstravam praticamente a transmissibilidade do hemoproteus pelas lynchias, confirmando, assim, a hypothese ha muito emittida, entre nós, pelo sabio professor A. Lutz e as nossas supposições pessoaes sobre a questão.

Tendo conseguido pombos absolutamente não infectados com hemoproteus pudemos, desde logo, corroborar as verificações dos sabios francezes nos servindo de uma especie de lynchia differente da que elles empregaram e, ao mesmo tempo, obter no organismo das aves, experimentalmente infectadas, as differentes phases da evolução do parasita já de nós conhecidas pelo estudo das infecções naturaes.

Encerrando aqui este ligeiro apanhado sobre o assumpto, entremos sem mais demora na exposição, mais minudente, das nossas pesquizas.

Material e technica das pesquizas

Temos felizmente disposto de um material muito abundante e apropriado ao estudo.

Os pombos infectados nunca faltaram ás nossas experiencias, pois não só dispomos no Instituto de mais de 600 aves nessas condições, como nos é sempre possivel obtel-as, por compra, em qualquer pombal no

Rio ou nas proximidades, pois a infecção é constante nessas aves.

São as aves novas as que apresentam infecções mais abundantes e apropriadas ao estudo.

Quanto ás aves indemnes nos foi, a principio, difficil obtel-as, pois todas as que recebiamos do Rio e dos Estados proximos apresentavam-se parasitadas. Resolvemos então mandal-as vir da Republica Argentina onde a infecção parece não existir, pois ainda não a observamos em mais de 150 aves daquella procedencia, de que nos temos utilisado até agora. Estes pombos são conservados, no Instituto, ao abrigo de qualquer contaminação em um compartimento protegido por tela metallica. Até agora não tivemos occasião de observar nellas um só caso de contaminação accidental, o que prova a efficacia da protecção por meio de tela metallica. Por sua vez, quando submettidas a experiencia, os pombos são isolados em gaiolas por egual modo protegidas.

As lynchias nós as apanhamos sobre os pombos adultos e principalmente sobre os filhotes que são mais abundantemente parasitados, podendo-se encontrar as vezes 20 insectos sobre uma só ave. Costumamos tambem crial-as de pupas apanhadas nos pombaes e nas gaiolas que servem ás experiencias.

As lynchias picam a ave com extraordinaria frequencia, que nos parece explicavel pela diminuta capacidade de seu apparelho digestivo, que não lhes permitte grandes reservas alimentares, como demonstra o facto de succumbirem ellas quando separadas dos pombos por mais de 48 horas.

A picada da lynchia incommoda muito os pombos que dellas procuram se libertar, catando-as, com o bico, entre as pennas. Para que as nossas aves em experiencia não destruam, por aquella forma, os insectos que os devem picar, costumamos cobrir a cabeça delles com um capuz de panno que só retiramos quando é necessario alimentar a ave.

As lynchias empregadas em nossas pesquizas são sempre collocadas, durante dous dias, sobre um pombo muito infectado, antes de servirem a qualquer verificação. Além disso temos sempre o cuidado de examinar o gráo de infecção de uma ou outra em cada lote, destinado ás experiencias, e só nos utilisamos dellas quando é grande o numero de ookinetos existentes em seu tubo digestivo.

Para obter a infecção por meio das lynchias fazemos o insecto picar a ave ou então inoculamos a esta emulsões grosseiras delle, que obtemos esmagando-os em um grál em que collocamos um pouco de agua physiologica. Estas emulsões podem, sem perigo, ser inoculadas aos pombos, mesmo por via intravenosa.

Quanto á pesquiza do parasita no organismo da ave ella póde ser feita a fresco, em frottis corados ou em cortes. Para o exame a fresco nos servimos do succo obtido, esmagando um pequeno fragmento do orgão entre duas laminas, que diluimos em um pouco de agua physiologica. Fazemos os frottis ou com succo obtido por compressão de um fragmento do orgão ou então seguindo a technica habitual; nós os fixamos pelo alcool methylico e coramos pelo Giemsa, usando, porém, 2 ou 3 vezes mais solução corante do que é recommendado para as colorações do sangue.

Os orgãos são fixados com muito bom resultado em sublimado acido ou com formol a 10%. Obtêm-se boas colorações para os cortes usando a hematoxylina de Böhmer, isoladamente ou com a eosina, o azul de methyleno e a eosina, a hematoxylina ferrea, etc.

Evolução do hemoproteus na lynchia

Uma vez chegados ao estomago da lynchia, os gametos adultos sugados pelo insecto, quando pica a ave infectada, tornam-se esphericos, abandonam os globulos que parasitam, occorrendo então a fecundação. A esta succede, decorridas 2 a 3 horas, a formação do ookineto que consome egual prazo para ser completa. O ookineto de todo desenvolvido é longo, apresenta-se arqueado ou em fórma de S, possue diversos vacuolos e tem o pigmento disseminado por quasi toda a superficie; é dotado de lentos movimentos gregariniformes que o fazem deslocar de um ponto para outro, o que permitte o seu agrupamento na porção anterior do intestino medio da lynchia onde existe, quasi sempre, sangue recentemente sugado, ao passo que é notavel a escassez daquella fórma do parasita, na porção posterior do tubo digestivo em que as hematias se apresentam mais ou menos degeneradas.

Ao cabo de algum tempo, depois do completo desenvolvimento do ookineto, a extremidade anterior deste começa a apresentar um colorido avermelhado, ao passo

que o pigmento, aos poucos, se accumula na porção postnuclear do parasita, aonde, em breve ao nivel do limite entre os dois terços posteriores, della apparece um estrangulamento que, augmentando cada vez mais, não tarda a dar logar á separação do resto do protozoario, de um globulo de protoplasma carregado de pigmento. Decorrido algum tempo, pelo mesmo processo, forma-se um novo estrangulamento que dá logar á eliminação de mais um globulo do protoplasma com o resto do pigmento.

Devido á reducção soffrida, por este processo, o parasita apresenta-se então com metade do seu comprimento primitivo: adquire, além disso, uma estructura homogenea, ao passo que o seu nucleo torna-se menos visivel. Todas as nossas tentativas com o fim de seguir, na lynchia, a evolução do parasita além daquella phase, têm sido absolutamente infructiferas. Não acreditamos que, continuando a evoluir, o parasita se torne invisivel e muito menos filtravel; tambem nunca conseguimos observar no insecto a sua transformação em trypanosomas.

A nossa opinião a respeito da evolução do hemoproteus é que attingida, a phase de ookineto reduzido, cessa, no insecto, a evolução do parasita, que se vai então completar no organismo do pombo, em que aquelle elemento é lançado pela mosca, na occasião da picada, pela regorgitação de uma pequena quantidade de sangue anteriormente ingerido, junctamente com alguns ookinetos que, como vimos, se accumulam na porção anterior do intestino medio do insecto.

A necessidade em que está a lynchia de picar com frequencia a ave, estabelece uma condição muito favoravel a uma tal occurrencia, cuja possibilidade é comprovada pelo apparecimento de alguns raros globulos parasitados na circulação das aves submettidas a experiencia, quando picadas por numerosas lynchias infectadas, muito antes do inicio da infecção experimental. E' evidente que taes formas só poderiam ter apparecido no organismo das aves, por haverem nelle sido lançados, pela lynchia, alguns globulos parasitados, por ella anteriormente sugados no pombo que se infectou. Não é admissivel em nosso caso a supposição de uma infecção anterior das aves com que trabalhamos, não só porque ellas nos vêm da Republica Argentina e até agora nunca apresentaram parasitas no sangue, anteriormente ás experiencias, como por que se, por accaso, tal facto occorresse, não adquiririam as infecções experimentaes que agora só obtivemos em aves absolutamente indemnes, parecendo que as já infectadas gosam de uma tal ou qual immunidade contra a molestia.

Quanto á transmissão do hemoproteus pela lynchia, pósta em evidencia pelos irmãos Sergent, ella recebe de dia para dia novas confirmações. As nossas verificações nesse sentido, feitas com uma especie de lynchia diversa da utilisada pelos sabios francezes, têm sido sempre positivas e attingem actualmente ao total de 23. O prazo de incubação por nós observado não tem excedido a 28 dias. A infecção não parece ser hereditaria, pois os pombos sobre os quaes temos collocado lynchias nascidas de pupas no laboratorio, ás vezes em numero de 80 para uma só ave, nunca se apresentaram infectadas, mesmo depois de decorrido longo prazo.

As infecções experimentaes, devido ao grande numero de lynchias que fazemos picar cada ave, têm-se apresentado, quasi sempre, mais abundantes do que as naturaes; são, além disso, proporcionaes ao numero e ao gráo de infecção dos insectos que picam a ave. Fazendo-se picar um pombo são por 15 lynchias infectadas já é bastante grande a infecção obtida; ella torna-se verdadeiramente collossal se o numero de insectos é elevado a 50.

As lynchias infectadas depois de picarem durante 3 dias um pombo são, não se mostraram mais capazes de transmittir o parasita a outras aves indemnes em 3 experiencias que fizemos empregando 15 a 25 insectos.

As inoculações intravenosas de emulsões de lynchias em agua physiologica têm dado logar sempre a infecção das aves em que nos temos utilisado desse processo inoculando-lhes emulsões feitas com um numero variado de insectos (5 a 15). A simples inoculação intravenosa de uma emulsão feita apenas com o abdomem de 10 lynchias foi sufficiente em 2 experiencias para produzir a infecção da ave. As infecções consecutivas ás inoculações intravenosas têm um prazo de incubação maximo a 25 dias; pódem ser tão intensas como as produzidas pela picada do insecto.

Ao contrario das emulsões de lynchias em natureza, os filtratos dellas, em vela Berkfeld, não parecem ser aptos a produzir a infecção da ave. Em uma experiencia feita nesse sentido, 5 pombos inoculados

por via venosa, com o filtrato, não adquiriram a infecção, ao passo que dous testemunhas, injectados com uma parte da mesma emulsão, não filtrada, apresentaram-se muito parasitados. E' de notar que todas as aves empregadas nesta experiencia estiveram sempre reunidas, na mesma gaiola, o que exclue qualquer causa, aliás pouco provavel, de contaminação.

Tentamos tambem obter a infecção de pombos inoculando-lhes as emulsões de lynchias por via subcutanea, não conseguindo, porém, por este processo, infectar 4 pombos aos quaes inoculamos uma emulsão feita com 25 lynchias infectadas, o que nos leva a considerar aquella via menos favoravel do que a venosa para o successo da experiencia.

Evolução do hemoproteus no organismo do pombo

Como anteriormente deixamos dito, o elemento que a lynchia lança no organismo da ave por occasião da picada é um ookineto que então nelle completa a evolução começada no insecto. Não conseguimos ainda surprehender o parasita no organismo da ave, logo após a sua inoculação pelo insecto, apenas rarissimas vezes conseguimos ver no ponto da picada do insecto e no pulmão da ave um ou outro leucocyto, em cujo protoplasma eram visiveis massas de chromatina com uma pequena orla de protoplasma, producto evidente do englobamento do protozoario lançado pelo insecto. Estas observações são absolutamente excepcionaes, pois geralmente só se consegue ver o parasita, no organismo da ave, 12 a 14 dias após a picada do insecto, permanecendo elle invisivel durante todo o periodo. Antes depois, porém, é relativamente facil encontrar o parasita no organismo do pombo, e seguir-lhe então toda a evolução ulterior no pulmão.

Neste orgão o protozoario é encontrado no interior de um leucocyto mononuclear, localisado dentro de um vaso a cujas paredes o globulo se colla, o que nos levou, ao começo, a pensar que a evolução tivesse logar em uma cellula endothelial. Desde logo, porém, modificamos essa opinião com a observação das phases iniciaes da evolução do parasita no pulmão, o que nos veio demonstrar que as cellulas parasitadas tinham todos os caracteres dos leucocytos.

Mau grado repetidas pesquizas, até agora ainda não conseguimos encontrar os globulos brancos parasitados no pulmão da ave antes daquelle prazo, o que talvez seja devido a somente se localisarem elles neste orgão, depois do parasita ter attingido um certo desenvolvimento, e que, em periodo anterior, taes cellulas circulem livremente no organismo da ave.

Qualquer, porém, que sejam a interpretação dada ao facto, o que não padece duvida é que o protozoario lançado pela lynchia no organismo do pombo, é englobado por um leucocyto que não o destróe e que, ao cabo de algum tempo, se localisa no pulmão da ave emquanto no seu interior se desenvolve o parasita.

A parte leucocytozoica do cyclo do hemoproteus até agora só foi por nós observada no pulmão da ave, o que se explica pela electiva localisação, neste orgão, dos globulos brancos infectados. Esta predilecção pelo pulmão dos leucocytos, que englobam um elemento que elles não podem destruir, nada tem de extraordinario, no caso vertente, é mesmo a regra sempre que aquellas cellulas se acham em taes condições.

As primeiras fórmas do parasita que se encontram no pulmão da ave após o prazo acima mencionado, são representadas por uma pequena massa de protoplasma de 3 a 4 μ de diametro, em cujo interior se vê um bloco de chromatina, ás vezes já em começo de divisão. O leucocyto, em cujo protoplasma se abriga esta forma do parasita, apresenta-se ligeiramente hypertrophiado. (Est. II. fig. 1).

Assignala uma phase mais adiantada da evolução do parasita a divisão da forma precedente em um certo numero de pequenos corpusculos, 12, 15 e mais que se encontram agrupados no interior de um leucocyto cujo protoplasma e nucleo apresentam, então, um maior gráo de hypertrophia do que na phase anterior. Cada um dos pequenos corpusculos contidos no leucocyto é constituido por uma massa de protoplasma, tendo no interior um granulo central de chromatina e possuindo uma membrana envolvente ainda pouco apparente nessa phase do desenvolvimento do parasita, que occorre do 15° ao 17° dia após a picada do insecto. (Est. II. fig. 2).

Em phase mais adiantada da evolução, cada um dos pequenos elementos contidos no protoplasma do leucocyto, adquire rapido desenvolvimento; o seu protoplasma torna-se volumoso, apresentando-se sob a forma de massas alongadas, medindo 8 a 12 no interior das quaes a chromatina, já então

dividida, apparece disseminada sobre a forma de 6 a 8 pequenos blocos. Possuindo cada uma dessas massas de protoplasma uma membrana envolvente nitida ellas apparecem constituindo outros tantos kystos inclusos no leucocyto parasitado.

Nesta phase da evolução, que occorre do 18° ao 20° dia depois da picada do insecto, os leucocytos apresentam-se extraordinariamente hypertrophiados e com a configuração de um grande sacco de 40 a 60 μ de diametro. (Est. II. fig. 3 e 4).

Alcançada esta phase, continuando o desenvolvimento dos kystos do protozoario no interior do leucocyto, as paredes deste, afinal, não mais podendo se distender, rompem-se pondo em liberdade os elementos que contêm; estes, apezar disso, conservam-se agrupados como anteriormente, devido ás adherencias reciprocas entre as suas membranas e destas com a parede do vaso em cujo interior se acham e cuja luz tomam, ás vezes, completamente. O numero de kystos, que se podem encontrar nestes agrupamentos no pulmão da ave, é ás vezes muito grande. Não raro o diametro das massas assim constituidas excede a 70 e a 80 μ. Nellas, ás vezes, ainda se vêm vestigios do nucleo do leucocyto sob a forma de uma ou mais massas de um tom vinhoso nas preparações coradas pelo Giemsa; a presença da membrana é mais constante, apresentando-se ella com um colorido roseo.

Nos kystos a partir desta phase se notam differenças accentuadas e que se patenteiam por uma maior condensação do protoplasma, coincidindo com a presença de menores porções de chromatina em uns, ao passo que, em outros, o protoplasma é pouco denso e a chromatina se apresenta em blocos maiores. Taes differenças se revelam nas preparações coradas pelo Giemsa apresentando os primeiros kystos um colorido muito mais intenso do que os outros. (Est. II. fig. 5 e 6, c. d). Apparecendo estas differenças em kystos da mesma edade e origem, pois estão reunidos em um mesmo agrupamento, pensamos serem ellas indicio de ulteriores differenças sexuaes dos elementos a que devem dar origem, parecendo que os primeiros kystos darão logar á formação de elementos masculinos e os segundos ás formas femininas do parasita.

Do 20° ao 24° dia da infecção o desenvolvimento adquirido pelo kysto é extraordinario; rapidamente elles alcançam 50 μ de diametro, o seu protoplasma condensa-se, tomando uma estructura mais fina e apresenta um ou outro vacuolo. A chromatina a principio pouco abundante no interior do kysto, em virtude de repetidas divisões, torna-se cada vez mais abundante e apparece finalmente representada por innumeros pequenos fragmentos; a membrana do kysto é muito nitida nesta occasião.

Attingida esta phase cessa o crescimento do kysto, nota-se então nelle do 24° ao 25° dia da infecção que o protoplasma se divide em numerosos pequenos blocos polygonaes que dá ao kysto o aspecto de um jovem esporoblasto do impaludismo. (Est. II. fig. 14).

Nestas porções polygonaes do protoplasma os granulos de chromatina são ainda mais abundantes do que em qualquer phase anterior, affectam uma disposição pheripherica. Finalmente ao cabo de 25 a 26 dias depois da picada do insecto observa-se, nas massas polygonaes acima descriptas, um ultimo processo de divisão, que dá logar ao isolamento de cada um dos granulos de chromatina dellas e de uma pequena porção de protoplasma e ao apparecimento, no interior do kysto, de centenas de merozoitos, o que representa a ultima phase da evolução do parasita.

Os merozoitos nas preparações coradas se apresentam com a forma sub-triangular; são constituidos por um granulo de chromatina collocado excentricamente em uma pequena massa de protoplasma e medem 1 μ. O protoplasma nas colorações pelo Giemsa apresenta um tom azul claro e a chromatina um colorido rubi intenso. A membrana do kysto maduro é muito nitida, ligeiramente estriada e cora-se em roseo claro.

Os desenhos coloridos que na estampa II se acham numerados desde 7 a 15 representam os kystos do parasita em suas differentes phases da evolução.

Uma vez completamente constituidos os merozoitos no interior do kysto este não tarda a romper-se, pondo em liberdade os elementos nelle contidos que são lançados na circulação da ave, cujos globulos vermelhos logo parasitam, o que occorre geralmente no 26.° dia após a picada do insecto. (Est. II. fig. 16).

A invasão dos globulos vermelhos parece ter logar immediatamente no pulmão, pois mesmo nas aves muito infectadas não é frequente encontrar-se, nas preparações de sangue, merozoitos livres. Estes, nas preparações a fresco, examinadas em gotta pendente, são alongados ou fusiformes, dotados de movimentos vibratorios intensos e

deslocam ligeiramente nas preparações. Emquanto occorrem as differentes phases da evolução do halteridio no interior do leucocyto, segundo o modo por que acabamos de referir, á proporção que progride a hypertrophia da cellula em consequencia do desenvolvimento dos kystos nella contidos, vae, aos poucos, diminuindo o calibre do vaso no interior do qual se acha o leucocyto; se este é um capillar fica desde logo obstruido pelo globulo branco hypertrophiado, cujos kystos se alongam pelo canal vascular, desenhando-lhe a forma, se porém tem maior calibre é preciso que haja um accumulo de leucocytos parasitados ou que sejam attingidas phases muito adiantadas da infecção para que o mesmo facto occorra. Estabelecem-se assim por todo o pulmão da ave pequenas embolias que nos casos de grande infecção podem dar logar a diminuição e mesmo a interrupção da corrente sanguinea em certas zonas do orgão, onde se nota mesmo, ás vezes, um começo de organisação do tecido.

Da disposição que tomam os kystos no pulmão da ave, dá uma ideia nitida o desenho de um corte de pulmão de pombo, experimentalmente infectado, que apresentamos na estampa II fig. 18.

Com a ruptura dos kystos de merozoitos o consequente lançamento na corrente sanguinea dos elementos que elle contem, a circulação do pulmão se restabelece na maior parte do orgão. Este facto dá logar a que alguns kystos, principalmente aquelles cuja evolução não se acha ainda muito adiantada, se desprendam dos agrupamentos em que se acham e sejam lançadas na circulação, onde apparecem desde as primeiras phases da infecção, e permanecem ahi durante algum tempo. A presença de kystos na circulação peripherica da ave é mesmo o signal mais evidente do inicio da infecção, pois ás vezes é mais facil encontrar nas preparações os kystos livres do que os parasitas nas hematias.

Os kystos na circulação peripherica affectam, nas preparações coradas, um aspecto um pouco differente do que é observado no pulmão; são constituidos por uma massa de protoplasma de forma polygonal e apresentam a chromatina em blocos alongados dispostos quasi parallelamente uns aos outros.

Sobre o destino destes kystos não temos ainda opinião definitiva, o facto, porem, é que alguns dias depois do começo da infecção o seu numero rapidamente diminue e, ao cabo de algum tempo, de todo desapparecem da circulação da ave.

A infecção das hematias é a principio pouco abundante depois, porém, toma rapidamente grande incremento e fica estacionaria por longo prazo. Na phase inicial della não raro se veem globulos parasitados por 8 a 12 pequeninos, o que se explica pelo facto de haverem essas hematias passado junto de um kysto adulto na occasião em que este dá sahida aos merozoitos nelle contidos, que então atacam esse erythrocito mais favoravelmente do que qualquer outro, nelle penetrando em grande numero. (Est. II fig. 17). A hematia assim tão abundantemente parasitada, não tarda, no emtanto, a ser destruida, pois não é possivel a evolução completa nella de mais de dous parasitas.

A evolução do protozoario no interior do globulo vermelho tende sempre para a constituição de um elemento sexuado, não possuindo o hemoproteus phase schizogonica. E' de notar que, se os kystos parecem, pelo menos em suas phases iniciaes, poder ser separados em machos e femeas, pela variavel proporcionalidade entre o protoplasma e a chromatina de cada um delles, como já anteriormente assignalamos, muito difficil é, ao começo da infecção, destinguir as differenças sexuaes entre os jovens parasitas entraglobulares, attingindo elles, porém, um certo desenvolvimento torna-se facil a destruição daquelles caracteres.

Não nos parece necessario por mais tempo nos alongar sobre o assumpto que serve de motivo a esta communicação, pensando ter exposto o que de mais interessante havia a referir sobre o cyclo do hemoproteus. As nossas pesquizas sobre esta questão continuam, esperando nós em breve apresentar resultados mais completos do que agora.

De accordo com as differentes phases da evolução do hemoproteus por nós até aqui observadas na lynchia e na ave, organisamos um schema do cyclo do parasita que junto apresentamos assim como uma estampa colorida das differentes phases do parasita no organismo do pombo.

Dando por terminado o nosso trabalho apresentamos as conclusões que se nos afiguram poder-se tirar dos resultados até agora alcançados.

Conclusões

1.º — As lynchias que parasitam os pombos transmittem o hemoproteus dessas aves.

2.º — A infecção do insecto não é hereditaria.

3.° — A inoculação aos pombos de emulsões de lynchias infectadas dá logar a segura infecção da ave.

4.° — A inoculação dos filtratos obtidos em véla Berkfeld das mesmas emulsões, é inocuo para os pombos.

5.° — A evolução do hemoproteus na lynchia não é acompanhada senão até a constituição de um ookineto, que parece ser a forma do parasita inoculada a ave por occasião da picada do insecto.

6.° — O elemento lançado pela lynchia no organismo do pombo é englobado por um leucocyto mononuclear, que ao cabo de certo prazo se localisa no pulmão da ave, no interior de um vaso, e em cujo protoplasma se desenvolve o parasita, durante algum tempo.

7.° — Somente no pulmão se observa a evolução do parasita em sua phase leucocytozoica, cujo ultimo periodo é representado pela formação de grandes kystos contendo numerosissimos merozoitos, que, finalmente, rompendo-se o kysto, são lançados na circulação e invadem os globulos vermelhos da ave, no interior dos quaes cada um daquelles elementos evolue no sentido de se transformarem em gametos.

8.° — Em presença dos factos, por nós observados, para o cyclo evolutivo do *hemoproteus columbae,* somos levado a acreditar que as gerações alternantes propostas por Schaudinn, para os protozoarios do genero hemoproteus, não tem absolutamente existencia real.

TOMO I FACICULO II

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

AGOSTO DE 1909

(Publicado em Dezembro)

Nova tripanozomiaze humana.

Estudos sobre a morfolojia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp.*, ajente etiolojico de nova entidade morbida do homem

pelo

Dr. Carlos Chagas,

Assistente.

(Estampas 9 a 13 e 10 figuras no texto)

Ueber eine neue Trypanosomiasis des Menschen.

Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des *Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp.*, Erreger einer neuen Krankheit des Menschen

von

Dr. Carlos Chagas,

Assistenten.

(Mit Tafeln 9—13 und 10 Textfiguren)

Introdução.

Em 1907 fomos incumbido pelo diretor Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ, de executar a campanha anti-paludica nos serviços de construção da Estrada de Ferro Central do Brazil, na rejião norte do Estado de Minas Geraes. Tivemos informações da existencia ali do hematofago, denominado *barbeiro* pelos naturais da zona, que habita os domicilios humanos, atacando o homem á noite, depois de apagadas as luzes, ocultando-se, durante o dia, nas frestas das paredes, nas coberturas das cazas, em todos os esconderijos, emfim, onde possa encontrar guarida. De regra, é o hematofago visto em maior abundancia nas habitações pobres, nas choupanas de paredes não rebocadas e cobertas de capim. Ali a reprodução delle é consideravel; são encontrados em numero imenso nas frestas das paredes e constituem condição anti-vital das mais notaveis, pela dificuldade trazida ao repouzo do homem. Muita vez verificámos o ataque do homem pelo hematofago: Poucos minutos apoz a extinção da luz nos apo-

Einleitung.

Im Jahre 1907 wurde ich von Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ, Leiter des Institutes von *Manguinhos* beauftragt, die Bekämpfung der Malaria bei der Konstruktion der brasilianischen Zentralbahn im Norden des Staates *Minas Geraes* zu organisieren. Daselbst hörte ich von dem Vorkommen eines gefürchteten blutsaugenden Insektes, das bei den Einwohnern als *Barbier (Barbeiro)* bekannt ist. Dasselbe lebt in den menschlichen Wohnungen, woselbst es nachts, nach Löschen der Lichter, die Bewohner angreift, während es bei Tage sich in den Spalten der Wände, in den Zimmerdecken und wo es sonst eine sichere Zuflucht findet, versteckt hält. In der Regel wird dieser Blutsauger in grösster Menge in den Wohnungen armer Leute gefunden, welche nicht getüncht und nur mit Gras gedeckt sind. Hier vermehrt derselbe sich so sehr, dass er in ungeheurer Menge auftritt und durch die Störung des Schlafes eine höchst ungünstige Wirkung ausübt. Ich war oftmals Zeuge der Angriffe dieser Blutsauger, welche in den

zentos saem elles dos esconderijos, em grande numero, e vêm picar os individuos, de preferencia no rosto. Acendendo-se o lume os hematofagos fojem rapidamente, sendo mesmo dificil, deste modo, a captura delles.

O hematofago só permanece nas habitações emquanto aí rezide o homem; das cabanas abandonadas bem depressa elle dezaparece, certo pelo fato de auzencia de alimentação.

Entre os naturais é crença geral que o hematofago é inseto silvestre, vindo á noite, para o interior das cazas, onde se domicilia e se reproduz. Si assim é, não o sabemos, porquanto, nunca nos foi dado verificar aquelle fato e tambem porque nunca encontrámos o inseto fóra de habitações humanas.

E' o hematofago referido um hemiptero heteroptero, da familia *Reduviidae*, genero *Conorhinus*. A especie é, provavelmente, *megistus* BURM. (Est. 9). O estudo do inseto, especialmente a biolojia delle, vai sendo feito na seção de zoolojia do Instituto, pelo Dr. ARTHUR NEIVA, que do assunto, quando oportuno, dará conhecimento exato.

Examinando o conteúdo do intestino posterior de exemplares de conorrinos, colhidos em Minas Geraes, no interior de habitações humanas, verificámos ali a prezença de numerozos flajelados com os carateres morfolojicos de critidias. Enviámos, então, hematofagos para o Instituto e, aí, o nosso diretor, Dr. OSWALDO CRUZ, tentou infetar um macaco da especie *Callithrix penicillata*, fazendo-o picar por diversos exemplares do hemiptero. Decorridos 20 ou 30 dias, apoz a picada, foram encontrados no sangue periferico daquelle macaco tripanozômos em grande numero, de morfolojia inteiramente diversa da de qualquer das especies conhecidas do genero *Trypanosoma*.

Iniciámos, então, o estudo do flajelado, conseguindo, desde logo, infetar por inoculação diversos animais de laboratorio, cobaias, cães, coelhos e outros macacos.

O parazito mostra-se patojenico para todos esses animais, mais para os *Callithrix* e para as cobaias e muito menos para os cães que,

Wohnräumen wenige Minuten nach Auslöschen der Lichter in grosser Zahl aus ihren Schlupfwinkeln hervorkommen und die Bewohner mit Vorliebe im Gesicht stechen. Wenn man dann das Licht anzündet, so fliehen diese Schmarotzer mit grösster Geschwindigkeit, so dass es schwer hält, sie bei dieser Gelegenheit zu fangen.

In den Wohnungen verbleiben diese Tiere nur so lange, als der Mensch sie benützt; aus verlassenen Hütten verschwinden dieselben sehr bald, wohl sicher in Folge mangelnder Nahrung.

Unter den dortigen Einwohnern herrscht allgemein die Ansicht, dass das blutsaugende Insekt ursprünglich im Walde lebt und nachts, vom Lichte angezogen, ins Innere der Häuser dringt, wo es sich niederlässt und weiter vermehrt. Ich bezweifle, dass es sich so verhält, da ich dieses Faktum nie beobachten konnte und das Insekt niemals ausserhalb menschlicher Wohnungen antraf.

Der erwähnte blutsaugende Schmarotzer gehört zu den *Hemiptera heteroptera*, zur Familie *Reduviidæ* und in das Genus *Conorhinus* (Tafel 9). Die Species ist wahrscheinlich *megistus* BURM. Das Studium dieser Insekten und insbesondere ihrer Biologie wird in der zoologischen Abteilung des Institutes von Dr. ARTHUR NEIVA ausgeführt, der darüber zu gelegener Zeit eingehend berichten wird.

Bei der Untersuchung des Hinterdarmes von *Conorhinus*wanzen, welche im Staate *Minas Geraes* im Innern menschlicher Wohnungen gesammelt waren, konstatierte ich zahlreiche Flagellaten mit den morphologischen Charakteren der *Crithidien*. Ich sandte darauf solche Wanzen an das Institut, woselbst unser Direktor, Dr. OSWALDO CRUZ, einen kleinen Affen der Species *Callithrix penicillata* zu infizieren suchte, indem er denselben von verschiedenen Exemplaren dieser Wanzenart stechen liess. 20—30 Tage nach der Application wurden im peripherischen Blute dieses Affen zahlreiche Trypanosomiden gefunden, die sich morphologisch deutlich von den anderen Arten des Genus *Trypanosoma* unterschieden.

Ich begann hierauf das Studium dieser Flagellatenart, wobei es mir gleich anfangs

quando adultos, sobrevivem longamente á infeção. O *Callithrix* e as cobaias morrem em tempo variavel, geralmente com menos de 1 mez; a cobaia em pouco mais que o *Callithrix;* o mesmo acontece ao cão novo.

Dos animais experimentados, o mais sensivel parece ser o *Callithrix*. Neste a infeção é sempre mais abundante do que nos outros animais e a ação patojenica tambem mais acentuada. Durante todo o evoluir da molestia, no *Callithrix*, como nos outros animais de laboratorio, os parazitos são vistos no sangue periferico, havendo fazes nas quais aumenta de modo sensivel o numero de flajelados, o que parece indicar multiplicação periodica.

Já em nota anterior publicada nos «Arch. für Schiffs- und Tropenhygiene» fizemos referencia ao tripanozómida que estudamos, em sua evolução no conorrino e nos animais por elle infetados, tendo denominado, nesse comunicado, o parazito *Trypanosoma cruzi*. O modo de evolver todo particular deste protozoario, como se verá no correr deste trabalho, pareceu-nos poder justificar a creação, para elle, de novo genero, o que fizemos, passando por isto a denominal-o *Schizotrypanum cruzi*.

Depois de haver estudado o duplo ciclo evolutivo do flajelado nos animais de laboratorio e no inseto transmissor e ignorando qual fosse o hospedeiro habitual do parazito, quizemos realizar novas pesquizas na zona onde haviamos encontrado os *conorhini* infetados, no intuito de esclarecer, si possivel, aquella incognita. Foi de grande exito nesse ponto, o rezultado a que chegámos, visto termos verificado ser o flajelado parazito do homem, ajente etiolojico de entidade morbida bem caraterizada. Nem o fato foi, para nós, grande surpreza, porquanto, considerando os habitos do hematofago, que só habita os domicilios humanos, e nutre-se, de preferencia, de sangue do homem, era bem de admitir, de acordo ainda com a teoria filojenetica dos hemo-flajelados, pudesse o parazito em questão infetar a especie humana. E foi raciocinando deste modo que empreendemos exames de sangue

gelang, dieselbe durch Impfung auf verschiedene Laboratoriumstiere, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde und andere Affen zu übertragen. Der Parasit erwies sich für alle diese Tiere als pathogen, am meisten für Callithrix-affen und Meerschweinchen und viel weniger für den Hund, der, wenn erwachsen, die Infektion lange überlebt. Erstere Tiere sterben nach verschiedenen Zeiträumen, Meerschweinchen gewöhnlich vor Ablauf eines Monats und die Pinseläffchen wenig später; dasselbe beobachtet man bei jungen Hunden.

Von den Versuchstieren scheint die *Callithrix* am meisten empfindlich. Bei dieser ist die Infektion immer reichlicher und die pathogene Wirkung mehr ausgesprochen, als bei anderen Tieren. Während des ganzen Verlaufes der Krankheit aller dieser Versuchstiere erscheinen die Parasiten im peripheren Blute, indem die Zahl der Flagellaten zeitweise deutlich zunimmt, was eine periodische Vermehrung anzudeuten scheint. Ueber die Entwicklung der Trypanosomide in der Wanze und den damit infizierten Tieren habe ich im «Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene» schon vorläufig berichtet und sie «*Trypanosoma cruzi*» genannt. Die eigentümliche Entwicklung, über die ich in der vorliegenden Arbeit ausführlicher berichten werde, lässt es jedoch gerechtfertigt erscheinen, eine neue Gattung dafür aufzustellen, weshalb ich sie jetzt «*Schizotrypanum cruzi*» nenne.

Nachdem ich den doppelten Entwicklungsgang dieses Flagellaten im Versuchstiere und im übertragenden Insekte studiert hatte, ohne den gewöhnlichen Wirt zu kennen, wollte ich auch in der Zone, in welcher ich die infizierten *Conorhinus* angetroffen hatte, Untersuchungen anstellen, um, womöglich, auch dieses Problem aufzuklären. Das erhaltene Resultat erwies sich als von grosser Tragweite, da ich feststellen konnte, dass dieser Flagellat ein menschlicher Parasit und die Ursache eines eigenartigen und gut characterisierten Krankheitszustandes ist. Uebrigens war diese Tatsache für mich nicht sehr überraschend; in Anbetracht der Gewohnheiten des Parasiten, welcher nur in Wohnungen lebt und sich mit Vorliebe von menschlichem Blute ernährt,

sistematicos nos individuos domiciliados nas cazas onde encontrámos *barbeiros;* procedemos ainda nelles a pesquizas semeioticas demoradas, afim de verificar a existencia de elementos morbidos carateristicos de tripanozomiazes. Examinámos, tambem, o sangue de animais domesticos que pernoitavam nas habitações humanas. Desde logo verificámos a existencia de tripanozómida no sangue periferico do gato.

Infeção do homem.

A historia clinica da nova especie morbida humana é ainda muito deficente, porquanto não nos foi dado acompanhar longamente doentes, estudando nelles, com a sequencia dezejavel, a sintomatolojia completa. Pouco sabemos do prognostico e das relações necessarias entre o evolver da especie morbida e o ciclo do ajente etiolojico, fatos de grande monta que vão depressa ocupar nossas pesquizas e dos quais procuraremos dar, oportunamente, minuciozo conhecimento.

No homem o que primeiro impressionou nossa atenção foi a existencia de conjunto de sintomas frequentes e uniformes, mais salientes nas creanças, sintomas que, desde logo se impunham a nosso raciocinio clinico como expressivos de entidade morbida autonoma. Eram delles os mais apreciaveis os seguintes:

Anemia profunda, com grande decadencia organica e, em muitas creanças, sensivel retardamento da evolução, e, nos adultos, infantilismo bem caraterizado; edemas, generalizados em alguns doentes, em outros, limitados a certas zonas; enfartamento ganglionar em todas as pleiades perifericas, podendo ser apreciados volumozos ganglios cervicais, axilares, crurais e inguinais; esplenomegalia, ás vezes consideravel, muito constante, sem que podesse ser atribuivel á infeção pelo impaludismo; hepatomegalia menos frequente; perturbações funcionais diversas, especialmente para o sistema nervozo, sendo de impressionar a condição inteletual precaria de muitas creanças, havendo, mesmo, muitos cazos de verdadeira imbecilidade.

konnte man — auch im Einklange mit der Theorie der phylogenetischen Entwicklung der Hämoflagellaten — annehmen, dass der fragliche Parasit den Menschen infizieren könnte. Von diesen Gedanken geleitet, unternahm ich eine systematische Blutuntersuchung bei den Bewohnern der Häuser, in welchen die «Barbeiros» gefunden wurden; zugleich nahm ich semeiotische Untersuchungen vor, um das Vorhandensein krankhafter Erscheinungen festzustellen, welche zur Kennzeichnung einer Trypanosomiasis dienen könnten. Ich untersuchte auch das Blut derjenigen Haustiere, welche in den menschlichen Wohnungen übernachteten, wobei ich gleich anfangs das Vorkommen des Trypanosoma im peripherischen Blute einer Katze konstatierte.

Die Infektion beim Menschen.

Die klinische Geschichte der neuen menschlichen Krankheitsart ist noch ungenügend, da ich nicht Gelegenheit hatte, einen Patienten längere Zeit zu beobachten und die ganze Symptomatologie mit wünschenswerter Genauigkeit zu verfolgen. Ueber die Prognose und die notwendigen Beziehungen zwischen dem Verlaufe des Krankheitsprozesses und dem Entwicklungszyklus des Erregers ist noch wenig bekannt; diese wichtigen Verhältnisse werden demnächst meine Aufmerksamkeit beschäftigen und ich hoffe, später darüber ausführlicher zu berichten.

Was beim Menschen zuerst meine Aufmerksamkeit erregte, war das Bestehen eines Komplexes von häufigen und übereinstimmenden Symptomen, welche bei Kindern auffallender waren; sie erschienen bei der klinischen Beobachtung sofort als Ausdruck einer selbständigen Krankheitseinheit. Am deutlichsten waren die folgenden zu erkennen: Hochgradige Anämie mit starkem organischen Verfall und eine im Verhältnis zum Alter auffällige Verspätung der Entwicklung mit ausgesprochenem Infantilismus; Oedeme, die bei einigen Patienten generalisiert, bei anderen auf gewisse Zonen beschränkt waren; Lymphdrüsenschwellungen, die an allen peripheren Gruppen zum Ausdruck kam, so dass ich grosse Nacken-, Achsel-, Schenkel- und Leistendrüsen beobach-

De informações cuidadozamente colhidas deduzimos ser muito grande a letalidade de creanças na zona. Referem os naturais como muito frequentes as convulsões infantis, em diversas idades, atribuindo áquelle síndrome a maioria de mortes das creanças. Ou assim é, morrem as creanças com predomio de sintomas para o lado do sistema nervozo, ou aprezentam, nos ultimos estádios de molestia fatal, verdadeira hidropizia, comparavel á da anquilostomiaze. E esse ultimo fato dá razão ás duas denominações pelas quais a molestia é conhecida pelos naturais, a de *opilação* e a de *canguary*, nomes dados pelo povo, em outras zonas onde grassa, á anquilostomiaze. Julgámos dever excluir a intervenção desta molestia do quadro morbido observado e para isso, apezar da auzencia de sinais clinicos daquella verminoze, procedémos a muitos exames de fezes, com rezultado negativo, naquelles doentes cujo aspeto morbido referimos.

Foi do modo seguinte que verificámos a infeção do homem pelo flajelado:

Em diversas habitações humanas, onde existiam *barbeiros*, em cujo intestino encontrámos abundantes fórmas de critidias, fizemos uma primeira vez exames de sangue, mais demorados nos doentes com a sintomatolojia referida. Nesta primeira pesquiza, cumpre observar, limitámo-nos a examinar, de cada doente, uma gota de sangue entre lamina e laminula, o que, de alguma fórma, justifica o rezultado negativo a que chegámos. Quatro dias depois, porém, chamado para medicar uma creança em estado grave, creança cujo sangue haviamos tambem examinado, verificámos, em pesquiza no estado vivo, a prezença de flajelados no sangue periferico. Córando preparados de sangue pelo metodo de GIEMSA concluimos ser o flajelado observado tripanozómida, de morfolojia inteiramente identica á do *Schizotrypanum cruzi*, cuja biolojia estudavamos no laboratorio, em animais inicialmente infetados por exemplares de *conorhini*, provenientes da mesma zona onde faziamos as atuais pesquizas.

Imediatamente apoz esta verificação inoculámos duas cobaias e um sagui com sangue

ten konnte; eine sehr konstante und oft beträchtliche Milzschwellung, welche nicht auf Malaria zurückgeführt werden konnte; weniger häufig Leberschwellung; endlich verschiedene funktionelle Störungen, besonders des Nervensystems, wobei namentlich der prekäre Zustand der Intelligenz auffiel, so dass sogar viele Fälle von wirklicher Imbecillität vorkamen.

Aus sorgfältig erhobenen Informationen entnahm ich, dass in der Zone die Kindersterblichkeit eine grosse war, wobei von den Einwohnern Konvulsionen als besonders häufig und auf verschiedenen Altersstufen auftretend angegeben und diesem Symptome die meisten Todesfälle unter den Kindern zugeschrieben wurden. Entweder sterben die Kinder in dieser Weise, unter vorherrschenden Symptomen von Seiten des Nervensystems, oder sie zeigen in den letzten Stadien der tödlichen Erkrankung eine wirkliche Wassersucht, welche mit derjenigen bei Ankylostomiasis vergleichbar ist. Letztere Tatsache rechtfertigt die beiden Benennungen, unter welchen die Krankheit unter den Einwohnern bekannt ist, nämlich «*Opilação*» und «*Canguary*», Namen welche von dem Volke in anderen Zonen, wo dieselbe herrscht, der Ankylostomiasis gegeben werden. Ich glaubte, den Einfluss letzterer Krankheit bei dem beobachteten Krankheitsbilde ausschliessen zu müssen und habe deshalb, ungeachtet des Fehlens klinischer Zeichen dieser Wurmkrankheit, bei Kranken mit den geschilderten Erscheinungen zahlreiche Fäkaluntersuchungen vorgenommen, welche ein negatives Resultat ergaben.

Die Infektion des Menschen durch den Flagellaten wurde von mir in folgender Weise festgestellt:

In verschiedenen menschlichen Wohnungen, wo «Barbeiros» vorkamen, in deren Darme ich reichlich *Crithidien*-formen gefunden hatte, machte ich eine erstmalige Blutuntersuchung, welche bei Patienten mit der oben angeführten Symptomatologie besonders eingehend war. Bei dieser ersten Untersuchung wurde, wie hier bemerkt sei, von jedem Patienten nur ein Blutstropfen im feuchten Deckglaspräparat untersucht, was das negative Resultat, zu dem ich gelangte, einigermassen

retirado, por punção venoza, da creança. As cobaias morreram no 6.º dia apoz a inoculação e no pulmão de ambas encontrámos fórmas parazitarias, inteiramente identicas ás que temos estudado no ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*. O *Callithrix*, 8 dias depois da inoculação aprezentou na circulação periferica flajelados de morfolojia identica a do tripanozómida estudado.

Outro rezultado pozitivo foi obtido quazi simultaneamente, por inoculação do sangue de creança de 2 anos em duas cobaias. Tratava-se de doente muito anemiado, com volumozos ganglios axilares, cervicais e inguinais, esplenomegalia, edema sub-palpebral, decadencia organica acentuada. Este doente era frequentes vezes acometido de acessos febris. Em exame de gotas de sangue periferico, entre lamina e laminula, assim como em exame do material retirado dos ganglios, nada obtivemos, pelo que dado o aspeto clinico carateristico do doente, rezolvémos tentar a inoculação de animais sensiveis. As duas cobaias morreram, uma dellas no 2.º dia, sem que podessemos verificar a prezença de parazitos, parecendo ter sido acidental a morte; a outra cobaia, porém, morreu no 9.º dia apoz a inoculação e no pulmão desta verificámos grande abundancia de fórmas parazitarias inteiramente identicas ás das cobaias da experiencia anterior. Não encontrámos no sangue periferico desta cobaia, em exame rapido, flajelados, o que significa o estado inicial da infeção e a pequena quantidade de material pesquizado.

Terceiro rezultado pozitivo foi-nos fornecido ainda por inoculação em cobaia. Tratava-se de creança de 6 anos, em condição morbida intensa, espressando-se em profunda anemia, edemas generalizados, perturbações funcionais do sistema nervozo. Ao exame fizico encontrámos grandes ganglios cervicais e axilares. O exame do sangue, em epoca de apirexia, exame de gota entre lamina e laminula, foi de rezultado negativo, pelo que inoculámos cobaia. Esta, 20 dias depois, aprezentava flajelados na circulação periferica e 2 mezes depois era intensa a infeção, tendo sobrevivido até agora o animal.

rechtfertigt. Als ich jedoch nach vier Tagen zur Behandlung eines schwer kranken Kindes gerufen wurde, dessen Blut ich schon zuvor untersucht hatte, konstatierte ich die Gegenwart lebender Flagellaten im peripheren Blute. In nach GIEMSA gefärbten Blutausstrichen erkannte ich in dem Flagellaten ein Trypanosoma, das morphologisch gänzlich übereinstimmte mit dem *Schizotrypanum cruzi*, dessen Biologie ich im Laboratorium studiert hatte und zwar an Tieren, welche ursprünglich durch *Conorhinus*-exemplare infiziert worden waren, die aus der Zone stammten, in welcher wir zur Zeit unsere Untersuchungen machten.

Nach diesem Befunde impfte ich sofort zwei Meerschweinchen und ein *Callithrix*-äffchen mit durch Venenpunktion entnommenem Blute des Kindes. Die Meerschweinchen starben am sechsten Tage nach der Impfung und in den Lungen beider wurden parasitäre Formen gefunden, welche mit den, im Entwicklungsstadium von *Schizotrypanum cruzi* studierten, vollkommen übereinstimmten. Die *Callithrix* zeigte acht Tage nach der Impfung im peripherischen Blutkreislaufe Flagellaten mit denselben Formen, wie die der studierten Trypanosomide.

Ein anderes positives Resultat wurde fast gleichzeitig erzielt, indem das Blut eines acht Jahre alten Kindes zwei Meerschweinchen eingeimpft wurde. Es handelte sich um einen Patienten mit starker Anämie, voluminösen Axillar-, Cervical- und Inguinaldrüsen, Milzschwellung, Oedem der Augenlider und ausgesprochenem organischen Verfall. Er litt auch an häufigen Fieberanfällen. Bei der Untersuchung von Tropfen des peripherischen Blutes im feuchten Präparate und ebenso bei einer solchen von Lymphdrüsenmaterial fand ich nichts, weshalb ich, im Hinblick auf das charakteristische klinische Bild des Patienten beschloss, die Uebertragung auf sensible Tiere zu versuchen. Beide Meerschweinchen starben, eines davon am zweiten Tage, ohne dass ich das Vorhandensein von Parasiten konstatieren konnte, während der Tod zufällig erfolgt zu sein schien; das andere Meerschweinchen starb dagegen am neunten Tage nach der Einimpfung und in den Lungen desselben fand

Convém afirmar a absoluta impossibilidade de infeção acidental dos animais em experiencia, os quais se achavam continuamente em gaiola de téla fina, ao abrigo de picadas de qualquer hematofago. E por outro lado, estando estes rezultados inteiramente de acordo com experiencias de laboratorio que obedeceram ao maior rigor de tecnica, izentas de qualquer cauza de erro, foram elles decizivos, dando marjem, desde logo, a concluzões definitivas.

O flajelado obtido no *Callithrix* por inoculação de sangue humano parazitado acha-se no laboratorio e tem servido para a continuação de novas pesquizas. Os *Callithrix* morrem um mez e meio apoz a inoculação com flajelados no sangue periferico e fórmas parazitarias no pulmão, identicas ás da scobaias.

Vamos referir a historia clinica dos dois doentes, em cujo sangue verificámos a prezença do *Schizotrypanum cruzi.*

I. BERENICE, de côr branca, 2 anos de idade, brazileira, nacida na mesma zona onde se encontra. A anamnese ensina: Auzencia completa de fenomenos morbidos até a prezente molestia, cujo inicio é referido á 4 mezes antes. As primeiras manifestações morbidas constaram de acessos febris intensos intermitentes, entrando a creança, desde essa ocazião, em franca decadencia organica. Depois dos primeiros ataques de reação febril a doente tinha periodos longos de apirexia, interrompidos de acessos febris de pouca duração. Não foram referidas perturbações funcionais do sistema nervozo.

Condição morbida atual: Palidez consideravel, aspeto *bouffu,* edema sub-palpebral constante e edemas fugazes na testa e membros. No primeiro exame, quando auzentes parazitos do sangue periferico, a doente achava-se apiretica; quatro dias depois, porém, quando encontrámos flajelados, a creança tornou-se febril, atinjindo a temperatura 40°, no primeiro acesso; a este seguiram-se tres outros nos dias consecutivos, começando a elevação de temperatura depois de meio dia e prolongando-se pela noite. Havia, nas primeiras horas do dia, algumas horas de apirexia.

ich eine grosse Anzahl parasitärer Formen, welche mit denjenigen des Meerschweinchens im obigen Versuche vollständig übereinstimmten. Bei einer kurzen Untersuchung fand ich im peripheren Blute dieses Meerschweinchens keine Flagellaten, was auf das Anfangsstadium der Infektion und geringe Menge des untersuchten Materials deutet.

Ich erhielt noch ein drittes positives Resultat durch die Impfung eines Meerschweinchens. Es handelte sich um ein sechsjähriges Kind in ausgesprochenem Krankheitszustande; derselbe äusserte sich in starker Anämie, generalisierten Oedemen und funktionellen Störungen von Seite des Nervensystems. Bei der Untersuchung konstatierte ich grosse Cervical- und Axillardrüsen. Die einmalige Untersuchung eines Blutstropfens unter dem Deckglase, welche während der Apyrexie vorgenommen wurde, ergab nichts, weshalb ein Meerschweinchen geimpft wurde. Dieses zeigte zwanzig Tage später Flagellaten in der peripherischen Zirkulation und zwei Monate darauf war die Infektion eine sehr lebhafte; doch ist das Tier bisher am Leben geblieben.

Es ist hier auch am Platze, die absolute Unmöglichkeit einer zufälligen Infektion der Versuchstiere anzuführen, welche sich, vor Stichen geschützt, in Käfigen von feiner Drahtgaze befanden.

Diese Ergebnisse stehen nun völlig im Einklange mit Laboratoriumsexperimenten, welche mit sorgfältigster Technik ausgeführt wurden und frei von jeder Fehlerquelle sind; so waren sie entscheidend und gestatteten ohne weiteres bestimmte Schlüsse.

Die Flagellaten, welche bei der *Callithrix* durch Einspritzung parasitenhaltigen menschlichen Blutes erhalten wurden, werden stets im Laboratorium gezüchtet und haben zur Fortsetzung neuer Versuche gedient. Der Affe starb $1\frac{1}{2}$ Monate nach der Inokulation, mit Flagellaten im peripheren Blute und Parasitenformen in den Lungen, welche mit denjenigen der Meerschweinchen übereinstimmten.

Ich gebe hier die klinische Geschichte der beiden Patienten, in deren Blute ich das Vorhandensein von *Schizotrypanum cruzi* konstatierte.

Exame fizico: Grande numero de ganglios cervicais, alguns bem volumozos, nas rejiões sub-maxilar, esterno cleido-mastoidea e na infra-clavicular. Diversos ganglios volumozos nas rejiões axilares, inguinais e crurais. Baço crecido, estando perceptivel, pela apalpação, sob a arcada costal. Area de matidez esplenica muito aumentada. Certo gráu de esplenaljia. Hepatomegalia. O figado está aumentado para cima e para baixo. Dôr á pressão do orgão, abaixo do rebordo costal e tambem no epigastrio. Aparelho urinario: Leves vestijios de albumina na urina. Micçõis normais. Sistema nervozo: Grande ajitação e delirio nos periodos de maxima elevação termica.

Sangue: Dia 14-4-09 — Tripanozómidas no sangue periferico, em numero não muito grande, sendo vistos de 15 a 20 em gota, entre lamina e laminula.

Dia 17-4-09 — A doente esteve febril durante a noite; tripanozómidas no sangue periferico, em numero sensivelmente menor que no exame anterior.

Dia 23-4-09 — A doente achava-se apiretica, desde 2 dias; tripanozómidas em menor numero, sendo com dificuldade verificaveis nos preparados vivos. Foi esta a ultima pesquiza que nos foi dado fazer nesta doente.

II. José, de 8 anos, côr preta, nacido na zona. A anamnese refere: Estado morbido desde 2 anos, espressando-se em grande fraqueza geral, edemas mais ou menos demorados na face e membros inferiores, acessos febris periodicos. Estado atual: Esteve febril 8 dias antes do nosso exame e no momento achava-se apiretico, notando-se, porém, salientes, os seguintes sintomas morbidos: edema palpebral, grande palidez com aspeto *bouffu*, ganglios cervicais, axilares e inguinocrurais engurjitados. Esplenomegalia acentuada e tambem hepatomegalia. Auzencia de perturbações funcionais do sistema nervozo.

Sangue: Dia 14-4-09 — Exame de preparado vivo, entre lamina e laminula, negativo; assim o exame de material retirado pela punção ganglionar.

I. Berenice, zweijährige, weisse Brasilianerin, am Orte der Untersuchung geboren. Die Anamnese ergiebt ein vollständiges Fehlen von Krankheitserscheinungen bis zum Beginne der gegenwärtigen Affektion, welche auf vier Monate früher angegeben wird. Die ersten Krankheitserscheinungen bestanden in sehr heftigen intermittierenden Fieberanfällen, wobei sich an der Kranken von dieser Zeit an ein deutlicher organischer Verfall zeigte. Nach den ersten Fieberanfällen hatte die Patientin längere Perioden von Apyrexie, die von kurz dauernden febrilen Accessen unterbrochen wurden. Funktionelle Störungen von Seite des Nervensystems wurden nicht angegeben.

Gegenwärtiger Krankheitsbefund: Bedeutende Blässe, gedunsenes Aussehen, beständiges Oedem der Augenlider und flüchtige Oedeme an Stirne und Extremitäten. Bei der ersten Untersuchung, als die Parasiten im peripheren Blute fehlten, war sie apyretisch; vier Tage darauf jedoch, als wir die Parasiten in demselben fanden, wurde das Kind fieberisch, wobei die Temperatur im ersten Anfalle 40 Grad erreichte; auf diesen folgten in den nächsten Tagen drei andere Accesse, bei welchen die Temperatursteigerung nach der Mittagsstunde eintrat und sich bis in die Nacht verlängerte. Zu Anfang des Tages gab es einige fieberfreie Stunden.

Untersuchung der Kranken: Grosse Anzahl von, zum Teil voluminösen, Drüsen am Halse, in den Submaxillar-, Sterno-cledomastoideal- und Supraclaviculargegenden. Verschiedene beträchtliche Drüsenschwellungen in den Axillar-, Inguinal- und Cruralregionen. Milz vergrössert, unter dem Rippenbogen der Palpation zugänglich; die Dämpfung deutlich erweitert, auch ein gewisser Grad von Splenalgie ist vorhanden. Leber vergrössert und zwar sowohl nach oben, wie nach unten. Beim Druck auf dieselbe unter dem Rippenbogen und im Epigastrium wird Schmerz empfunden.

Harnapparat: Leichte Spuren von Albumin im Urin. Mictionen normal.

Nervensystem: Grosse Aufregung und Delirien während der Perioden höchster Temperatursteigerung.

Blut: 14-IV-09. Trypanosomen im peri-

Dia 17-4-09 — Negativo o exame de gota entre lamina e laminula. Inoculadas nesse dia 2 cobaias com sangue obtido por punção venoza, morreram 12 dias depois e aprezentaram no pulmão grande numero de formas esquizogonicas. Este doente, como a precedente, continua sob observação clinica.

III. JOAQUINA, de 6 annos, do sexo feminino, côr parda. Doente desde 6 mezes com acessos febris irregulares. Grande decadencia organica. Edema generalizado mais acentuado no rosto e nos membros inferiores. Ganglios do pescoço, especialmente os da rejião cleido-mastoidéa, muito volumozos. Baço aumentado e dolorozo á palpação. Insonias repetidas e ajitação noturna.

Sangue: Pesquiza de gota entre lamina e laminula, negativa. Verificação da infeção pela prezença de flajelados em cobaia inoculada.

Morfolojia e evolução do Schizotrypanum cruzi no organismo dos vertebrados.

No sangue periferico dos animais infetados o *Schizotrypanum cruzi* aprezenta duas fazes distintas de evolução, a de organismos intraglobulares e a de flajelados livres no plasma.

No inicio da infeção, isto é, quando tem logar o aparecimento dos primeiros flajelados no sangue periferico, as fórmas intraglobulares são mais abundantes, sendo nesta faze, ás vezes, as unicas encontradas na circulação periférica. O aspeto dos tripanozómidas intra-globulares é variavel: ora se acham elles inteiramente incluidos no globulo vermelho, de modos diversos, formando ás vezes circulo, ou colocados transversalmente, ora têm parte incluida na hemátia e outra livre no plasma, ora, finalmente, o que é aspeto muito frequente, são vistos prezos á hemátia só pelo blefaroplasto. A incluzão de tripanozómidas em hemátias, mais abundantes no inicio da infeção é vista em menor numero, em qualquer outra faze da molestia, o que indica ser aquelle fenomeno condição biolojica no ciclo evolutivo do protozoario.

pherischen Blute in nicht sehr grosser Anzahl, indem etwa 15—20 in einem Tropfen zwischen Objectträger und Deckglass gesehen werden.

17-IV-09. Patientin hat während der Nacht Fieber gehabt; Trypanosomen im peripherischen Blute in deutlich geringerer Anzahl, als bei der letzten Untersuchung.

23-IV-09. Die Patientin ist seit zwei Tagen ohne Fieber; Trypanosomen in geringerer Zahl und im frischen Präparate nur mühsam nachzuweisen. Es war dies die letzte Untersuchung, welche ich bei der Kranken machen konnte.

II. JOSÉ, achtjähriger Mulattenjunge, in der Zone geboren.

Die *Anamnese* ergiebt:

Seit zwei Jahren ein krankhafter Zustand, der sich in grosser allgemeiner Schwäche, mehr oder weniger dauernden Oedemen im Gesicht und an den unteren Gliedmassen, sowie in periodischen Fieberanfällen äussert.

Gegenwärtiger Zustand: Acht Tage vor unserer Untersuchung hat er Fieber gehabt, gegenwärtig ist er apyretisch, dagegen treten folgende Krankheitssymptome deutlich hervor: Oedem der Augenlider, grosse Blässe mit gedunsenem Aussehen, angeschwollene Cervical-, Axillar- und Inguinocruraldrüsen. Ausgesprochene Splenomegalie und auch Leberschwellung vorhanden. Funktionelle Störungen von Seite des Nervensystems nicht nachzuweisen.

Blut: 14-IV-09. Untersuchung im frischen Zustande, negativ; ebenso eine solche von durch Drüsenpunktion erhaltenem Material.

17-IV-09. Untersuchung eines Blutropfens im frischen Präparate negativ. Zwei mit, durch Venenpunktion erhaltenem, Blute geimpfte Meerschweinchen starben nach 12 Tagen und zeigten in den Lungen grosse Mengen von Schizogonieformen. Der Patient bleibt, wie der vorige, in klinischer Beobachtung.

III. JOAQUINA, sechsjähriges Mulattenmädchen. Seit sechs Monaten krank, mit unregelmässigen Fieberanfällen. Starker organischer Verfall. Allgemeine Oedeme, im Gesichte und an den unteren Gliedmassen mehr ausgesprochen. Ganglien des Halses, besonders der Cleido-mastoidealregion, sehr volumiös. Milz geschwollen und auf Druck empfindlich. Wie-

Desde o estádio intra-globular é bem saliente no tripanozómida dualismo morfolojico, permanecendo este em todas as fazes do ciclo evolutivo. Este dimorfismo, que se espressa mesmo nos preparados defeituozamente fixados apóz dessecamento e que melhor se carateriza, de modo exato, quando são os preparados fixados humidos, consta principalmente de diversidade de fórma e de dimensões do blefaroplasto e do nucleo, como será verificado nas descrições seguintes.

Aprezentando o tripanozómida algumas variantes morfolojicas conforme o mamifero infetado pensámos mais conveniente estudar a morfolojia do parazito adulto nos trez principais hospedeiros vertebrados, homem, sagui e cobaias, em seguida descrevendo as diversas fazes do ciclo evolutivo na cobaia e no sagui, principais animais que serviram para nossas experiencias.

Schizotrypanum cruzi no sangue periferico do homem.

Os exames do parazito no sangue de nossa primeira doente só foram feitos com fixação, apoz desecamento, e coloração pelo metodo de GIEMSA, o que ocaziona certa deficiencia nos dados morfolojicos obtidos. Verdade é que temos conhecimento exato da morfolojia do tripanozómida humano inoculado no *Callithrix*, conhecimento fornecido pela fixação a humido e coloração pela hematoxylina ferrea (metodo de ROSENBUSCH) o que vem garantir a verdade de nossa descrição.

No sangue humano observámos dois aspetos morfolojicos bem distintos do tripanozómida:

Uma das fórmas aprezenta grande blefaroplasto ovoide, colocado muito proximo ou exatamente na extremidade posterior do parazito, com o maior diametro transversal. A fixação a seco determina ver-se, de regra, saliencias laterais do blefaroplasto, o qual se aprezenta com aspeto de barra de cromatina transversal, com as partes laterais não cercadas de plasma. E' frequente observar-se, nesta fórma, como apendice do blefaroplasto

derholte Schlaflosigkeit und nächtliche Aufregung.

Blut: Untersuchung eines frischen Präparates negativ. Feststellung der Infektion durch Auffinden von Flagellaten bei einem geimpften Meerschweinchen.

Morphologie und Entwicklung des Schizotrypanum cruzi im Organismus der Wirbeltiere.

Im peripherischen Blute der infizierten Tiere zeigt das *Schizotrypanum cruzi* zwei verschiedene Entwicklungsphasen: diejenige des intraglobulären Organismus und die der im Blutplasma frei vorkommenden Flagellaten. Zum Beginne der Infektion, d. h., wenn die ersten Flagellaten im Blute erscheinen, sind die intraglobulären Formen zahlreicher vorhanden und nicht selten in dieser Phase die einzigen, welche in dem peripheren Blutkreislauf gefunden werden. Ihr Aussehen ist ein wechselndes: bald befinden sie sich im roten Blutkörperchen vollständig eingeschlossen, indem sie manchmal kreisförmig, manchmal transversal gelagert sind, bald haben sie einen Teil im Innern des Blutkörperchens und den andern frei im Plasma oder endlich, was sehr häufig zu sehen ist, sind sie nur durch den Blepharoplasten mit den Hämatien verbunden. Der Einschluss der Trypanosomen in den Blutkörperchen, welcher zu Anfang der Infektion häufiger ist, wird in den anderen Phasen der Krankheit seltener gesehen, was darauf hinweist, dass diese Erscheinung einen biologischen Zustand im Entwicklungszyklus des Protozoons darstellt.

Schon vom intraglobulären Stadium an, zeigt sich beim *Schizotrypanum* sehr deutlich ein morphologischer Dualismus, welcher in allen Entwicklungsphasen weiter besteht. Dieser Dimorphismus, welcher auch in getrockneten und mangelhaft fixierten Präparaten zum Ausdruck kommt und sich genauer und deutlicher kennzeichnet, wenn der Parasit feucht fixiert wird, zeigt sich besonders in der Verschiedenheit von Form und Dimensionen des Kernes und Blepharoplasten, wie man aus den folgenden Beschreibungen ersehen kann.

segundo elemento cromatico, a elle intimamente ligado e que corresponde ao fuzo central e ao rizoplasto bem apreciavel nos preparados fixados humidos. O nucleo principal tem geralmente fórma ovoide ou se aprezenta como longa faixa de cromatina, colocada no sentido lonjitudinal, aspeto este que parece indicar faze atrazada na evolução do nucleo. E' frequente observar-se, no interior do nucleo, corpusculo de cromatina mais intensamente córado e que corresponde ao cariozoma.

A membrana ondulante aprezenta-se com variavel numero de ondulações dependentes, naturalmente, das condições de movimento do parazito no momento da fixação. O flajelo, cuja orijem apreciavel é ou o proprio blefaroplasto ou a o elemento cromatico já citado apenso áquelle, passa de uma para outra extremidade do organismo, geralmente nas imediações do nucleo ou exatamente ao nivel deste e aprezenta porção livre de comprimento variavel, sempre mais curta que na outra fórma que vamos em seguida descrever. A extremidade anterior do parazito é afilada, sendo o flajelo livre acompanhado até certa altura por delgado prolongamento do plasma.

A outra fórma, observada no sangue humano distingue-se da precedente, sobretudo, pelo tamanho e aspeto do blefaroplasto e do nucleo.

Aqui o blefaroplasto é mais ou menos esferico situado na extremidade posterior do organismo e muito menor que a da fórma anterior não aprezentam de regra, pela tecnica uzada, apendice cromatico apreciavel.

O nucleo é tambem esferico, aprezenta a cromatina menos condensada, sendo, ás vezes, possivel observar os elementos constitutivos della separados em diversos cromozomios. Finalmente, nesta fórma o plasma aprezenta largura sensivelmente maior que na fórma anterior.

Observámos ainda, no sangue de nossa doente, um outro aspeto de tripanozómida no qual o blefaroplasto, ao contrario do que acontece no aspeto normal, acha-se muito dis-

Da die Trypanosomiden, je nach der Art des geimpften Säugetieres, einige Formverschiedenheiten zeigen, halte ich es für angebracht, die Morphologie des Parasiten in den drei Hauptwirten Mensch, *Callithrix* und Meerschweinchen zu studieren und hierauf die verschiedenen Entwicklungsphasen im Meerschweinchen und Pinseläffchen zu beschreiben, da diese Tiere hauptsächlich zu meinen Versuchen dienten.

Das Schizotrypanum cruzi im peripherischen Blute des Menschen.

Die Untersuchung des Parasiten im Blute unserer ersten Kranken wurden mit getrockneten, fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten gemacht, was eine gewisse Mangelhaftigkeit der erhaltenen morphologischen Befunde erklärt. Allerdings kannte ich die Morphologie des menschlichen Parasiten genau, da ich sie an den geimpften Aeffchen studiert hatte, wobei feuchte Fixation und Färbung mit Eisenhämatoxylin (Methode von ROSENBUSCH) zur Anwendung kam, was die Richtigkeit unserer Beschreibung garantiert. Im menschlichen Blute beobachtete ich zwei deutlich verschiedene Formen des Trypanosomiden.

Eine der Formen zeigt einen grossen, eiförmigen Blepharoplasten, welcher sehr nahe oder ganz am Hinterende des Parasiten liegt und seinen grössten Durchmesser in transversaler Richtung hat. In Folge der trockenen Fixation bilden sich in der Regel seitliche Hervorragungen des Blepharoplasten, der als transversaler Chromatinbalken erscheint, bei welchen die beiden Enden nicht vom Plasma eingefasst sind. Bei dieser Form beobachtet man häufig ein zweites Chromatinelement, das als innig verbundenes Anhängsel des Blepharoplasten erscheint und der Centralspindel und dem Basalkorn entspricht, was in feucht fixiertem Präparate sehr deutlich wird. Der Hauptkern hat gewöhnlich eine ovale Form oder erscheint als langes, in Längsrichtung gelagertes Chromatinband; die letzte Form scheint eine frühere Phase in der Entwicklung des Kernes anzudeuten. Man erkennt häufig im Innern des Nucleus ein stärker ge-

tante da extremidade posterior do organismo. Nesta fórma o nucleo aprezenta-se sempre como longa faixa lonjitudinal. Acreditamos tratar-se aqui de fórmas de evolução, nas quais a emigração do blefaroplasto para a extremidade do parazito vae-se realizando. Identico aspeto observámos algumas vezes em cobaias, inoculadas com parazitos vindos dos conorrinos.

Não raro é observar-se no sangue humano fórmas do tripanozómida incluidas nas hemátias, sendo demonstrativo deste fato a figura 28 da Est. 10.

Morfolojia do Schizotrypanum cruzi, de orijem humana, no sangue do Callithrix penicillata.

A inoculação do sangue de nossa doente BERENICE em *Callithrix penicillata* forneceu-nos intensa infeção, com abundancia do parazito no sangue periferico, de modo a termos podido estudar minuciozamente a morfolojia do tripanozómida.

Uzámos, como processo de tecnica, além da coloração pelo metodo de GIEMSA, o recente processo de ROSENBUSCH, do qual tivemos conhecimento pelo Dr. MAX HARTMANN. Consta do seguinte o metodo de coloração de ROSENBUSCH: Fixação a humido, pelo sublimado-alcool, segundo SCHAUDINN, durante vinte minutos ou meia hora; passajem dos *frottis* pelos alcooles a 70° e 95°, permanecendo de 10 a 15 minutos em cada; lavajem com agua distilada e permanencia de duas horas em solução a 3,5 % de alumen ferrico; nova lavajem em agua distilada e coloração, durante 5 minutos, em solução a 1 % de hematoxilina em alcool a 96 %, adicionada de algumas gotas de solução concentrada de carbonato de litio; lavajem dos preparados em agua corrente e diferenciação em solução aquoza a 2,5 % de alumen ferrico; dezhidratação e montajem no balsamo. A mistura córante deve aprezentar a côr de vinho tinto, sendo necessario que a solução alcoolica de hematoxilina tenha sido preparada com antecedencia nunca menor de 4 semanas. A parte mais delicada do

färbtes Chromatinkörperchen, welches dem Caryosom entspricht.

Die undulierende Membran zeigt eine wechselnde Anzahl von Ausbuchtungen, die natürlich von den Bewegungzuständen abhängen, in welchen der Parasit fixiert wurde. Die Geissel, welche, so weit man sehen kann, vom Blepharoplast selbst oder dem erwähnten Chromatinelement, welche sich an diesen anschliesst, entspringt, verläuft quer von einem zum anderen Ende des Organismus, gewöhnlich sehr nahe oder direkt im Niveau des Kernes und zeigt einen freien Teil, von wechselnder Länge, aber immer kürzer, als in der andern Form, die ich noch näher beschreiben werde. Das Vorderende des Parasiten ist zugespitzt, indem die freie Geissel bis zu einer gewissen Höhe von einem dünnen Protoplasmafortsatz begleitet ist.

Die zweite im menschlichen Blute beobachtete Form unterscheidet sich von der vorigen besonders durch Grösse und Aussehen des Blepharoplasten und des Kernes.

Hier ist der Blepharoplast mehr oder weniger rund, am Hinterende des Organismus liegend und bedeutend kleiner als bei der vorigen Form; auch zeigt er in der Regel bei der angewandten Technik kein deutliches Chromatinhängsel. Auch der Nucleus ist rund und das Chromatin erscheint weniger verdichtet, so dass man manchmal seine Zusammensetzung aus verschiedenen Chromatinkörnern unterscheiden kann. Endlich zeigt bei dieser Form das Plasma eine deutlich grössere Breite, wie in der vorigen.

Ich habe ausserdem im Blute unserer Patientin noch eine Form des Trypanosoma beobachtet, in welcher der Blepharoplast im Gegensatz zum gewöhnlichen Befunde sich sehr weit vom Hinterende des Organismus befindet; dabei zeigt sich der Kern immer als ein langes und längsgerichtetes Chromatinband. Ich halte dies für eine Entwicklungsform, in welcher die Wanderung des Blepharoplasten nach dem Hinterende des Parasiten sich eben vollzieht; einen ähnlichen Anblick beobachtete ich einigemale bei Meerschweinchen, welche mit von *Conorhinus* stammenden Parasiten geimpft waren.

processo é a diferenciação; desta depende, essencialmente, o sucesso dos preparados. Por outro lado, cumpre observar que alguns protozoarios rezistem mais á diferenciação pelo alumen, quando outros deixam escapar mais depressa a materia córante; pelo que, o gráu de diluição da substancia diferenciadora deverá variar e será conhecido para cazo especial, de acordo com ensaios realizados.

Obtivemos com este metodo de pesquizas, os melhores rezultados nas diversas fazes da evolução, tendo chegado ao conhecimento das mais finas estruturas do tripanozómida, não apreciaveis pelos outros metodos.

No *Callithrix* pelo metodo de GIEMSA, o *Schizotrypanum cruzi* aprezenta os aspetos morfolojicos descritos no sangue do doente, sendo de notar, porém, que nas fórmas de grande blefaroplasto este se aprezenta ainda maior que no sangue humano. Interessantes foram os rezultados fornecidos pelo processo de ROSENBUSCH: Bem evidente é aqui o dimorfismo do tripanozómida e, em vista do processo de fixação uzado, devemos considerar os aspetos morfolojicos verificados como absolutamente verdadeiros e não determinados por acidentes de tecnica.

Uma das fórmas do tripanozómida mostra grande blefaroplasto, quazi sempre ovoide, situado proximo da extremidade posterior do organismo; neste blefaroplasto distingue-se grande corpusculo central, esferico ou ovoide, intensamente córado, e zona externa clara, limitada por membrana delgada, de contorno, ás vezes, regular. E' a zona de suco nuclear do nucleo-blefaroplasto, como acaba de demonstrar ROSENBUSCH para diversos tripanozômos. Nos exemplares cuja fixação e coloração tenham sido bem sucedidas, observa-se, partindo do blefaroplasto, quazi sempre em ligação com o cariozoma deste, cone fibrilar de aspeto difuzo, na extremidade do qual ha pequeno corpusculo intensamente córado. Esta ultima estrutura é o fuzo central e o corpusculo da extremidade, ponto de emergencia do flajelo, é o corpusculo bazal. Esse aspeto corresponde ás observações de ROSENBUSCH; aqui, porém, com muito maior nitidez.

Nicht selten beobachtet man im menschlichen Blute auch Trypanosomenformen, die in den Blutkörperchen eingeschlossen sind, wie die Figur 28, Taf. 10 zeigt.

Morphologie des von Menschen stammenden Schizotrypanum cruzi in der Callithrix penicillata.

Die Ueberimpfung des Blutes unserer Patientin BERENICE auf eine *Callithrix penicillata* ergab eine intensive Infektion mit zahlreichen Parasiten im peripherischen Blute, so dass ich die Morphologie des *Schizotrypanum* genau studieren konnte.

Von technischen Verfahren benützte ich neben der Methode von GIEMSA auch die neue von ROSENBUSCH, deren Kenntnis ich den Vorlesungen von Dr. MAX HARTMANN verdanke. Dieselbe besteht in Folgendem: feuchte Fixierung durch Sublimalalkohol nach SCHAUDINN während 20 bis 30 Minuten, Durchführen der Ausstriche durch Alkoholgemische von 70 bis 95 Grad (bei einem Aufenthalte von 10 bis 15 Minuten in jedem derselben) und zurück; Abspülen im destillierten Wasser und zweistündigem Verweilen in einer 3,5 % Eisenalaunlösung; abermaligem Abspülen in aqua destillata und Einlegen während eines Zeitraums von 5 Minuten in eine 1 % Lösung von Hämatoxylin in 96 % Alkohol, welcher einige Tropfen einer konzentrierten Lithiumkarbonatlösung zugesetzt werden. Hierauf werden die Ausstrichpräparate in fliessendem Wasser gewaschen und in einer 2,5 % wässerigen Eisenalaunlösung differenziert; dann wird das Präparat deshydratiert und in Balsam eingeschlossen. Die Farbelösung soll eine Rotweinfarbe zeigen und die Hämatoxylinlösung wenigstens vier Wochen früher hergestellt sein.

Der delikateste Teil des Verfahrens ist die Differenzierung und davon hängt hauptsächlich das gute Resultat ab. Jedoch muss bemerkt werden, dass einige Protozoen der Differenzierung durch Alaun länger widerstehen, während andere den Farbstoff schneller abgeben; deswegen muss der Verdünnungsgrad der differenzierenden Substanz wechseln und sich in jedem Falle nach zuvorgemachten Ver-

O nucleo principal nesta fórma é ovoide, com membrana muito regular, bastante espessa, e com grande cariozoma esferico no centro. A zona de suco nuclear é quazi sempre clara, inteiramente sem cromatina, ou aprezenta raras e finas trabeculas desta substancia.

A membrana ondulante, cuja largura é igual a pouco mais do terço da largura do plasma, aprezenta pequeno numero de ondulações e não deixa, por este processo, perceber estrutura especial. O flajelo parte, em alguns exemplares, do corpusculo bazal, situado no apice do cone fibrilar; ás vezes, porém, não é perceptivel o fuzo central nem o corpusculo bazal, emerjindo, então, o flajelo diretamente da membrana do nucleo-blefaroplasto. Pode-se supor que, em tais cazos, o fuzo central dezaparece e que o corpusculo bazal se torne invizivel em consequencia de enrugamento. O plasma aprezenta, ás vezes, estrutura alveolar bem nitida; em alguns exemplares, porém, mostra estrutura mal caraterizada, de aspeto difuzo, ou mais ou menos reticular. As extremidades do parazito são afiladas, ponteagudas.

A outra forma distingue-se da precedente pelo tamanho muito menor do blefaroplasto e pelo aspeto do nucleo. Aqui, o nucleo-blefaroplasto, ora esferico, ora ovoide, aprezenta ainda um corpusculo central (cariozoma), menor que o da forma precedente, cercado de zona clara, em cuja periferia existe circulo de substancia cromatica, com o aspeto de membrana. Partindo do cariozoma do blefaroplasto, é geralmente vizivel o fuzo central, com o corpusculo bazal na extremidade.

O nucleo é esferico, com cariozoma central menor que na forma precedente; zona de suco nuclear clara, sem substancia cromatica e membrana espessa. E' frequente nesta forma observar-se condição nuclear curioza, similar á verificada por JOLLOS nos coccidios e por ZÜLZER nos heliozoarios. Os nucleos (Est. 13, fig. 1, 5, 6 e 7) aprezentam-se muitas vezes em estado de mitoze sem que seja observado qualquer outro estádio de divizão nos outros pontos do organismo celular. E' mitoze precoce do nucleo, precedendo a esquizogonia do parazito, fenomeno atualmente conhecido em citosuchen richten. Mit dieser Untersuchungsmethode erhielt ich bei verschiedenen Entwicklungsstadien die besten Resultate und erkannte die feinsten Strukturen des *Schizotrypanum*, welche bei den anderen Methoden nicht zu beobachten waren.

Nach der Methode von GIEMSA zeigt das *Schizotrypanum cruzi* die im Blute der Patientin geschilderten Formen auch bei der *Callithrix*; doch ist zu bemerken, dass bei den Formen mit grossen Blepharoplasten dieser noch grösser erscheint, als im menschlichen Blute. Sehr interessant waren die Ergebnisse der Methode von ROSENBUSCH: hier zeigt sich der Dimorphismus des Trypanosomiden sehr deutlich und im Hinblick auf die angewandte Fixierungsart kann man die beobachteten morphologischen Bilder als natürliche und nicht durch technische Zufälligkeiten verursachte ansehen.

Eine der Trypanosomenformen zeigt einen grossen, fast immer eiförmigen Blepharoplasten am Hinterende des Organismus, in welchem man einen grossen runden oder eiförmigen Centralkörper erkennt, welcher intensiv gefärbt ist; ferner eine äussere helle Zone, welche durch eine dünne Membran mit nicht selten ganz regelmässigem Umrisse begrenzt wird. Es ist dies die Kernsaftzone des Blepharoplastkernes, wie dies ROSENBUSCH neuerdings für verschiedene Trypanosomen gezeigt hat.

An solchen Exemplaren, bei welchen Fixation und Färbung gut gelungen sind, beobachtet man vom Blepharoplasten ausgehend und fast immer in Verbindung mit dem Caryosom desselben, einen faserigen Kegel von diffusem Aussehen, der an seinem Ende ein stark gefärbtes Körperchen trägt. Dieses Strukturelement ist eine Centralspindel und das endständige Körperchen, von den die Geissel entspringt, ist das Basalkörperchen. Auch dies entspricht den Befunden von ROSENBUSCH, ist in unsern Falle aber noch deutlicher.

Bei dieser Form ist der Hauptkern eiförmig, mit regelmässiger dickerer Membran und einem grossen runden Caryosom im Zentrum. Die Kernsaftzone ist fast immer hell, ganz ohne Chromatin oder schliesst nur wenige und feine Bälkchen dieser Substanz ein. Die undulierende Membran, deren Breite etwas mehr als

lojia de protozoarios. Diversos dos nossos dezenhos registam este fato e num delles (Est. 13, fig. 1) observa-se, bem nitida a divizão do centriolo com formação do fuzo central (*Centralspindel*); as duas metades do nucleo são dezigiuais, o que não indica, como poderia parecer á primeira vista, divizão heteropolar, mas deve antes significar dezigualdade na evolução das duas partes do nucleo, como é de regra observar, segundo JOLLOS, no coccidio «*Adelea ovata*». Permanece, nesta figura, ainda intata a membrana nuclear, apezar de quazi completa a divizão das substancias do interior.

E' digno de salientar, na citolojia deste tripanozómida, a estrutura do blefaroplasto. Este se aprezenta com todas as partes e com a organização identica á do nucleo, com cariozoma, zona do suco nuclear, correspondendo ao halo claro que circumda este e membrana nuclear, de contorno nem sempre muito nitido. O modo de encarar o assunto pela escola de SCHAUDINN, por V. PROWAZEK, HARTMANN, etc., que consideram o blefaroplasto como segundo nucleo, o nucleo locomotor dos tripanozomidas, tem aqui solido apoio.

Morfolojia e ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi no organismo da cobaia.

Foi no organismo da cobaia que estudámos, principalmente, o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, sendo nossa descrição bazeada em grande numero de experiencias com aquelle animal. Das fazes principais do ciclo evolutivo, principalmente daquellas que constituem, na evolução deste tripanozómida, fenomeno não conhecido nas outras especies, procurámos e obtivemos confirmação no organismo do *Callithrix penicillata*, do cão e de outros animais sensiveis.

No sangue periferico das cobaias inoculadas e sistematicamente estudadas o *Schizotrypanum cruzi* tem primeira faze de evolução no interior das hemátias e outra livre no plasma, conforme acima dissemos. Já nas formas intraglobulares a dualidade morfolojica é bem acentuada, aprezentando-se uma das

einem Drittel der Breite des Plasmakörpers gleich kommt, zeigt eine geringe Zahl von Ausbuchtungen und lässt bei diesem Verfahren keine besondere Struktur erkennen. Die Geissel enspringt bei einigen Exemplaren von dem Basalkörperchen, das am Ende des Faserkegels liegt; manchmal ist jedoch weder die Centralspindel, noch das Basalkörperchen sichtbar und es entspringt dann die Geissel direkt der äusseren Membran des Blepharoplastkernes. Man kann annehmen, dass dann die Centralspindel rückgebildet und das Basalkorn infolge Schrumpfung unsichtbar geworden ist.

Das Plasma zeigt bei einigen Exemplaren eine sehr deutliche alveoläre Struktur, bei anderen jedoch einen undeutlichen diffusen, mehr oder weniger netzartigen Bau. Die Enden der Parasiten sind verschmälert und zugespitzt.

Die andere Form unterscheidet sich von der vorigen durch die viel geringere Grösse des Blepharoplasten und das Aussehen des Kernes. Hier zeigt der bald runde, bald eiförmige Blepharoplastkern ein kleineres Caryosom als in der vorigen Form, welches ebenfalls von einer helleren Zone umgeben ist, die in ihrer Peripherie einen Kreis von chromatischer Substanz in der Form einer Membran enthält. Vom Blepharoplastcaryosom entspringend, sieht man gewöhnlich die Centralspindel mit dem Basalkörperchen an einem Ende.

Der Kern ist rund, mit einem kleineren zentralen Caryosoma als in der vorigen Form, einer hellen Kernsaftzone ohne chromatische Substanz und dicker Membran. Bei dieser Form beobachtet man häufig einen sonderbaren Zustand des Kernes. Aehnliches wurde (nach mündlichen Mitteilungen von Dr. HARTMANN) von JOLLOS bei *Coccidien* und von ZÜLZER bei *Heliozoen* beobachtet (Fig. 1, 5, 6 u. 7, Taf. 13).

Die Kerne zeigen sich oft im Zustande der Mitose, ohne dass man an den anderen Teilen des Zellorganismus Teilungen erblicken könnte. Es handelt sich um eine frühzeitige Mitose des Kernes, welche einer Schizogonie des Parasiten vorangeht, eine heutzutage in der Cytologie der Protozoen bekannte Er-

formas, nos preparados tratados pelo GIEMSA, com grande blefaroplasto colocado na extremidade posterior e com nucleo muito longo, lonjitudinalmente disposto (Est. 10, fig. 11 e 12). A outra forma caracteriza-se pelo blefaroplasto menor, pelo aspeto do nucleo que, ao em vez de ser longo e estar lonjitudinalmente disposto, aprezenta-se ovoide, com a cromatina menos condensada, e, finalmente pela largura maior do plasma. Numa e noutra fórma o blefaroplasto, que, nos organismos completamente dezenvolvidos se acha quazi na extremidade posterior, póde ser visto afastado desta, mais para as proximidades do nucleo.

Em algumas fórmas intra-globulares não existem ainda o flajelo e a membrana ondulante, tambem auzentes, ás vezes, das formas prezas ás hemátias pelo blefaroplasto (Est. 10, fig. 17 e 18). Nestas ultimas, muito frequentes conforme dissemos, não é raro ver-se o nucleo localizado em porção dilatada do parazito, que se aprezenta com aspeto piriforme (Est. 10, fig. 16 e 17). E' frequente nas hemátias a que se acham prezos tripanozomidas ver-se a impressão deixada no globulo pelo parazito, parecendo nem sempre haver destruição do globulo vermelho parazitado. Não vimos, jamais, qualquer aspeto de pigmentação das hemátias em que se achavam tripanozomidas incluidos.

Abundantes no inicio da infeção, as fórmas intra-globulares do parazito são vistas em qualquer periodo, em maior ou menor quantidade, o que não admira, visto serem ellas faze necessaria na evolução deste flagelado.

Os tripanozomidas livres no plasma aprezentam morfolojia semelhante á das fórmas intra-globulares. E minuciozamente tratámos dessa morfolojia, quando descrevemos o parazito do sangue do sagui inoculado com sangue humano, pelo que, quazi nada nos resta dizer.

A dualidade de fórma continúa evidente. E, admitindo diferenciação sexuada relativa á diversidade morfolojica, deveremos considerar femea a fórma com blefaroplasto menor, quazi sempre esferico, com nucleo ovoide de cromatina frouxa, nas colorações pelo GIEMSA,

scheinung. Verschiedene unserer Zeichnungen geben diesen Vorgang wieder und auf einer derselben (Fig. 1, Taf. 13) sieht man deutlich die Teilung des Centriols mit Bildung der Centralspindel (Centrodesmose); die beiden Hälften des Nucleus sind ungleich, was nicht, wie es auf den ersten Blick scheinen könnte, eine heteropolare Teilung beweist, sondern, wie das nach JOLLOS auch bei der Coccidie *Adelea ovata* in der Regel der Fall ist, eher eine Ungleichheit in der Entwicklung der beiden Teile des Kernes andeutet. Es bleibt in dieser Figur die Kernmembran noch unverändert, obgleich die Substanzen im Innern schon fast vollständig geteilt sind.

Bei der Cytologie dieses Trypanosomas verdient die Struktur des Blepharoplasten hervorgehoben zu werden. Derselbe zeigt sich in allen seinen Teilen und in seiner Organisation als identisch mit dem Nucleus, indem er ein Caryosom, eine Kernsaftzone (der das erstere umgebende, helle Hof) und eine Kernmembran mit — nicht immer sehr deutlichem — Umrisse besitzt. Hier findet die Anschauungsweise der SCHAUDINN'schen Schule (PROWAZEK, HARTMANN, u. s. w.), welche den Blepharoplasten als zweiten, lokomotorischen Kern der *Trypanosomen* ansieht, eine feste Stütze.

Morphologie und Entwicklungskreislauf des Schizotrypanum cruzi im Organismus der Meerschweinchen.

Den Entwicklungskreis des *Schizotrypanum cruzi* habe ich ganz besonders am Meerschweinchen studiert und meine Beschreibung beruht auf einer grossen Anzahl an diesen Tieren gemachter Versuche. Von den hauptsächlichsten Entwicklungsphasen dieses Trypanosomas, besonders denjenigen, welche noch unbekannte Vorgänge darstellen, suchte und fand ich die Bestätigung im Organismus der *Callithrix penicillata*, des Hundes und der anderen empfänglichen Tiere.

Im peripherischen Blute der geimpften und systematisch studierten Meerschweinchen hat das *Schizotrypanum cruzi* eine erste Entwicklungsphase im Innern der Blutkörperchen und eine zweite frei im Plasma, wie ich oben aus-

plasma mais largo. A outra fórma, de maior blefaroplasto, nucleo comprido e ovoide, plasma mais estreito, será, então, a fórma macha.

Não temos idéa formada, por emquanto, respeito á relação numerica entre essas duas fórmas no correr da infeção; certo é, porém, que em dados momentos ha predominancia evidente de uma sobre a outra.

Nas primeiras fazes de infeção observa-se no sangue periferico grande diversidade nas dimensões das fórmas de flajelados; encontram-se organismos, intra-globulares ou livres no plasma, muito estreitos e de pequeno comprimento, com nucleo longo, em faixa, ou arredondado, indicando assim, desde este estádio joven, a dualidade morfolojica (Est 10, fig. 22, 23 e 24). Nos preparados, segundo ROSENBUSCH, encontrámos minucias de estrutura que merecem especial referencia. Os flajelados do plasma aprezentam blefaroplasto com a estrutura nuclear já descrita a propozito do tripanozomida humano no sangue; identica, tambem, é a estrutura do nucleo, havendo ainda figuras muito tipicas de mitoze precoce. O aspeto do plasma, da membrana ondulante e do flajelo é identico aos descritos para o tripanozomida, no macaco. O que observámos aqui de interessante foi a prezença frequente de estrutura fibrilar especial, constituida de unica fibrila espessa (Centrodesmoze), ligando o nucleo ao blefaroplasto (Est. 13, fig. 5, 6 e 8). Parece tratar-se do fuzo central da divizão heteropolar, o qual teria permanecido, apoz as formações do blefaroplasto.

Esquizogonia do Schizotrypanum cruzi no pulmão de vertebrado.

As mais minuciozas pesquizas nunca nos permitiram verificar qualquer aspeto que pudesse ser considerado como divizão lonjitudinal do *Schizotrypanum cruzi* no sangue periferico, ou nos orgãos profundos. Este fato, de si, indicava a existencia de outro processo de multiplicação, que pesquizámos e verificámos amplamente, constando elle de esquizogonia do flagelado no pulmão dos animais infetados. Não temos ainda deter-

einandergesetzt habe. Schon bei den intraglobulären Formen ist die morphologische Dualität gut gekennzeichnet, indem eine der Formen in Präparaten, die nach GIEMSA gemacht sind, einen grossen, am Hinterende liegenden, Blepharoplasten und einen sehr langen, längsgerichteten Kern zeigt (Fig. 11, 12, Taf. 10). Die andere Form charakterisiert sich durch kleineren Blepharoplasten und die Form des Kernes, welcher, statt lang und längsgerichtet, eiförmig und mit weniger dichtem Chromatin versehen erscheint, endlich durch die grössere Breite des Plasmakörpers. In beiden Formen kann der Blepharoplast, der in ganz entwickelten Organismen sich beinahe am Hinterende findet, von diesem entfernt und mehr in der Nähe des Kernes gesehen werden.

Bei einigen der intraglobulären Formen fehlt die Geissel und die undulierende Membran, welche auch zuweilen bei den Formen, die mittelst des Blepharoplasten an den Blutkörperchen haften, vermisst werden (Fig. 17 und 18, Taf. 10). Bei letzteren, die, wie gesagt, sehr häufig sind, sieht man öfters den Kern in einer erweiterten Portion der birnförmig erscheinenden Parasiten liegen (Fig. 16 und 17, Taf. 10). Nicht selten erkennt man in den Blutkörperchen, denen Trypanosomiden anhaften, den vom Parasiten zurückgelassenen Eindruck, wobei dasselbe nicht immer zerstört zu werden scheint. Niemals habe ich bei den eingeschlossenen Trypanosomiden irgend eine Andeutung von Blutpigment gesehen.

Die zu Anfang der Infektion häufigen, intraglobulären Parasitenformen werden zu jeder Zeit in grösserer oder geringerer Menge beobachtet, was nicht verwundern kann, da sie eine notwendige Entwicklungsphase dieses Flagellaten darstellen; die im Plasma frei vorkommenden Trypanosomiden zeigen eine Morphologie, welche derjenigen der intraglobulären Formen ähnlich ist. Dieselbe ist eingehend behandelt worden, als ich den Parasiten der mit menschlichem Blut geimpften Pinseläffchen beschrieb, weshalb nichts mehr darüber gesagt zu werden braucht. Die Dualität der Formen bleibt auch weiterhin deutlich. Wenn man entsprechend der verschiedenen Morphologie einen Geschlechtsunterschied an-

minismo seguro para surpreender a faze de esquizogonia do parazito, com facilidade. E' que a virulencia do *Schizotrypanum cruzi* parece variar de acordo com diversos fatores, ainda não determinados, parecendo delles o mais importante a passajem atravez do organismo da mesma especie animal. Assim é que, em nossas experiencias, a inoculação de 1 centimetro cubico de sangue de cobaias infetadas por conorrinos, matava, quazi seguramente, os animais, em 5 dias, aprezentando as cobaias grande abundancia de fórmas esquizogonicas no pulmão e alguns flajelados no sangue periferico. Apoz algumas passajens em cobaias, porém, o tripanozómida não matava mais os animais naquelle espaço de tempo, vindo as cobaias a morrer apoz 1 ou 2 mezes, geralmente com intensa infeção e sendo encontradas, no pulmão, grande abundancia de fórmas esquizogonicas. Por outro lado, em qualquer faze da molestia encontram-se poucas fórmas de multiplicação, sendo as vezes dificil verificar, nestas condições, a esquizogonia.

De multiplas experiencias concluimos ser o melhor processo, para obter abundancia de fórmas esquizogonicas, a inoculação intraperitoneal de 1 a 2 centimetros cubicos de sangue de cobaia infetada por conorrinos, sacrificando-se os animais, quando não morram, do 5.º ao 6.º dia depois da inoculação.

A abundancia de fórmas de esquizogonia no momento da morte dos animais com infeção demorada (cronica) e o menor numero dellas em outras fazes da molestia, nos animais sacrifacados, faz-nos acreditar em multiplicações periodicas do parazito, que seriam verdadeiras recrudecencias da molestia; tanto mais quanto, no sangue periferico, a quantidade de flajelados aprezenta ocilações, cujas normas não nos foi possivel ainda determinar.

No pulmão, a esquizogonia, como a do parazito da malaria, realiza-se nos capilares, multiplicando-se o tripanozómida do seguinte modo: Os parazitos perdem o flajelo e a membrana ondulante, deslocando-se o nucleo de sua pozição normal para o lado da extremidade anterior; esta extremidade, por movimento de flexão do organismo, aproxima-se

nimmt, müssen wir die Formen mit kleinerem, gewöhnlich rundem Blepharoplasten, mit eiförmigem, lockeres Chromatin enthaltendem Kerne und breiterem Plasmakörper (bei GIEMSA-färbung) als weibliche ansehen. Die andere Form mit grösserem Blepharoplasten, eiförmigem oder langgestrecktem Kerne und schmälerem Plasmakörper, wäre dann die männliche.

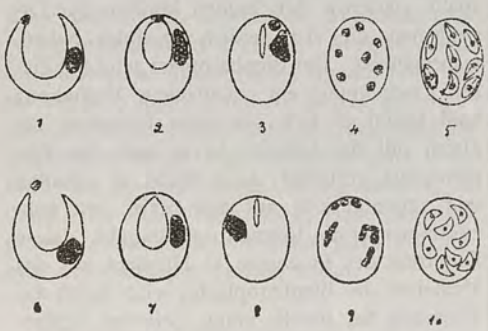
Ich habe zur Zeit noch kein sicheres Urteil über das Zahlenverhältnis, welches zwischen beiden Formen in Verlauf der Infektion besteht; jedoch steht soviel fest, das zu gewissen Zeiten die eine über die andere in auffallender Weise vorwiegt.

In den ersten Infektionsphasen beobachtet man im peripherischen Blute eine grosse Verschiedenheit in den Dimensionen der Flagellatenformen; man findet intraglobuläre und frei im Plasma vorkommende Organismen, die sehr schmal und kurz sind und einen breiten Kern haben, der bandförmig oder rund ist und die auf diese Weise schon im Jugendzustande die morphologische Dualität verraten. (Fig. 22, 23 und 24, Taf. 10). In den Präparaten nach ROSENBUSCH fand ich Struktureinzelheiten, welche eine besondere Erwähnung verdienen. Die Flagellaten im Plasma zeigen einen Blepharoplasten mit der — schon bei dem, vom Menschen abstammenden, Trypanosomiden des Pinseläffchens beschriebenen — Struktur; auch der Bau des Kernes ist identisch, indem gleichfalls typische Bilder von frühzeitiger Mitose vorkommen. Plasma, undulierende Membran und Geissel gleichen vollständig den bei den Parasiten des Aeffchens beschriebenen Bildern. Besonders interessant war auch eine, häufig beobachtete, fibrilläre Struktur, welche aus einer einzigen dicken, Kern und Blepharoplast verbindenden, Fibrille (Centrodesmose) besteht. (Fig. 5, 6, 8, Taf. 13). Es scheint sich um den Rest der Kernspindel der heteropolaren Teilung zu handeln, welche nach der Bildung des Blepharoplasten weiter besteht.

Schizogonie des Schizotrypanum cruzi in der Lunge der Wirbeltiere.

Die eingehendsten Beobachtungen gestatteten mir niemals, im peripherischen Blute

da posterior com ella se fundindo; torna-se, então, esferico ou arredondado o parazito, e, é possivel ver ainda, em muitos exemplares, a fenda de separação entre as duas metades do organismo que se uniram lateralmente. O blefaroplasto tem, no fenomeno, duplo procedimento: Ora elle se separa do parazito, juntamente com o flajelo, antes que o tripanozómida se tenha tornado esferico, (Est. 10, fig. 31 a 36 e fig. do texto de 6 a 10) ora elle é conservado, funde-se com o nucleo e entra com elle em multiplicação. (Fig. do texto 1 a 5). Esta duplicidade de processo, em relação ao blefaroplasto, vem aliaz confirmada no aspeto das fórmas esquizogonicas completamente divididas. (Vide fig. 5 a 10 do texto).



Segue-se a divizão do nucleo; delle só, num dos casos; do nucleo e do blefaroplasto, no outro. O processo de divizão nuclear, os fenomenos celulares exatos deste momento do ciclo são ainda obscuros, porquanto não os estudámos, o que devemos fazer depois, com o emprego da fixação a humido e no estado vivo.

As fórmas segmentadas aprezentam 8 pequenos organismos claviformes, dispostos irregularmente no interior do espaço limitado por delgada pelicula que será, de certo, o periplasto do parazito. Esta pelicula, a um exame superficial, poderia impropriamente, fazer considerar as fórmas descritas como quistos, impressão fornecida, ainda, nos preparados fixados apoz dessecamento, por orla clara, de duplo contorno, que cerca o parazito nesta faze e que deverá ser explicada pela coagulação de substancias aderentes á

oder in den inneren Organen irgend ein Bild aufzufinden, welches als eine Längsteilung des Schizotrypanum angesehen werden könnte. Dies allein genügt, um die Existenz eines anderen Vermehrungsprozesses nahe zu legen; ich suchte einen solchen und fand ihn sehr reichlich: er besteht in einer Schizogonie des Trypanosomas in der Lunge der infizierten Tiere. Es fehlt noch an einem sicheren Anhaltspunkte, um die Schizogoniephase des Parasiten mit Leichtigkeit auffinden zu können. Der Grund liegt darin, dass die Virulenz des *Schizotrypanum cruzi* unter dem Einfluss verschiedener noch unbekannter Faktoren wechseln kann, wobei als der wichtigste die Passage durch den Organismus derselben Tierart erscheint. So tötete in unseren Versuchen die Einspritzung eines ccm. Blutes von Meerschweinchen, welche durch *Conorhinus* infiziert waren, die Tiere fast sicher in 5 Tagen, wobei die Meerschweinchen eine grosse Menge von Schizogonieformen in der Lunge und einige Flagellaten im peripherischen Blute zeigten. Nach einigen Meerschweinchenpassagen tötete aber das *Schizotrypanum* die Tiere nicht mehr in dieser Zeit, indem die Meerschweinchen ein bis zwei Monate später starben, gewöhnlich mit intensiver Infektion, wobei man in der Lunge eine grosse Menge von Schizogonieformen fand. Auf der anderen Seite finden sich in einer beliebigen Krankheitsphase nur wenige Vermehrungsformen, sodass es unter solchen Bedingungen schwer hält, die Schizogonie zu beobachten.

Aus zahlreichen Versuchen schliesse ich, dass die beste Methode, reichliche Schizogonieformen zu erhalten, in der Intraperitonealeinspritzung von 1 bis 2 ccm. Blut von Meerschweinchen, die durch *Conorhinus* infiziert wurden, besteht, wobei man die Tiere, wenn sie nicht sterben, am 5. oder 6. Tage nach der Einspritzung tötet.

Der Reichtum an Schizogonieformen bei Tieren mit chronischer Infektion im Momente des Todes und die geringere Zahl desselben bei — in anderen Phasen der Krankheit — getöteten — Tieren lässt mich an eine periodische Vermehrung des Parasiten glauben, wodurch eigentliche Rückfälle der Krankheit zu Stande

superficie da celula. Aliaz, aspeto identico é observado nas amebas em repouzo, especialmente nas culturas em agar, quer no estado vivo, quer no material fixado.

Aprezentam-se com dois aspetos, em relação á estrutura dos merozoitos, as fórmas segmentadas do parazito, bem estudadas nos preparados fixados pelo metodo de SCHAUDINN e córados pelo de ROSENBUSCH. Verificámos, assim, duas estruturas bem distintas: óra, os merozoitos se aprezentam com nucleo esferico, tendo pequeno cariozoma central e zona de suco nuclear distinta limitada por delgada membrana, (Est. 13, Fig. 26) não sendo encontrado nestes o blefaroplasto; óra se aprezentam com nucleo, possuindo maior quantidade de cromatina, tendo cariozoma maior que o das fórmas anteriores, esferico e unico, ou disposto em 2 lóbos; nestes vê-se quazi sempre o blefaroplasto, colocado na extremidade delgada do parazito e ligado ao nucleo por filamento cromatico (Est. 13, Fig. 25, 27 e 28) ou situado muito proximo do nucleo, delle apenas diferenciado. Na mesma fórma segmentada encontram-se, ás vezes, diversos estádios dos merozoitos em relação á pozição do blefaroplasto, conforme é facil verificar á fig. 27, Est. 13. Os merozoitos da primeira estrutura, que consideramos como fórmas femeas, são tambem menores que os outros, que acreditamos ser os elementos machos. E' bem de crer que as fórmas segmentadas, cujas unidades se aprezentam já com o blefaroplasto, individualizado, correspondam aos tripanozómidas que conservaram o blefaroplasto, e as outras sejam a esquizogonia dos flajelados cujo blefaroplasto fôra expelido com o flajelo, no momento de se tornarem esfericos, no pulmão. Nos preparados córados pelo GIEMSA é possivel verificar alguns pontos da estrutura descrita, especialmente a prezença ou auzencia do blefaroplasto. (Est. 11, Fig. 42, 43, 44 e 46). Alí, porém, o nucleo se aprezenta sem estrutura apreciavel, como massa de cromatina compacta, geralmente disposta em 2 lóbos. (Est. 11, Fig. 45).

Os merozoitos, parece, escapam individualmente do espaço limitado pela pelicula envolvente; não ha aqui, como para o cazo do

kommen, um so mehr, als im peripherischen Blute die Zahl der Flagellaten Schwankungen zeigt, deren Gesetz ich noch nicht feststellen konnte.

In der Lunge vollzieht sich die Schizogonie, wie bei Malariaparasiten, in den Kapillaren, indem das Trypanosoma sich auf folgende Weise vermehrt: die Parasiten verlieren Geissel und undulierende Membran, während der Kern sich aus seiner normalen Stellung nach dem Vorderende zu disloziert; dieses Ende nähert sich durch eine Biegung des Organismus dem Hinterende und verschmilzt mit demselben; der Parasit wird so rundlich oder kugelförmig und man kann bei manchen Exemplaren noch die Trennungsspalte zwischen den beiden Hälften der Organismen, die sich seitlich vereinigt haben, wahrnehmen. Der Blepharoplast zeigt bei dieser Erscheinung ein zweifaches Verhalten: bald trennt er sich von dem Parasiten, zugleich mit der Geissel, bevor sich das Trypanosoma abrundet; bald bleibt er erhalten und vereinigt sich mit dem Kern, mit dem zusammen er die Vermehrung eingeht. Diese Duplizität des Prozesses in Hinsicht auf das Verhalten des Blepharoplastes wird durch das Aussehen der bereits völlig geteilten Schizogonieformen weiter bestätigt.

Es folgt hierauf die Teilung, in einem Falle des Kernes allein, im anderen des Kernes und Blepharoplasten. Der Prozess der Kernteilung und die genaueren Vorgänge in der Zelle während dieser Phase sind noch unklar, da ich sie nicht, wie ich später zu thun gedenke, unter Anwendung der feuchten Fixierung oder im lebenden Zustande studiert habe.

Die Teilungsformen zeigen 8 kleine, keulenförmige Teilungsprodukte, die unregelmässig im Innern eines, von dünner Haut begrenzten, Raumes angeordnet sind; letzerer muss dem Periplast des Parasiten entprechen und könnte bei oberflächlicher Untersuchung die beschriebenen Formen unrichtigerweise als Cysten auffassen lassen. Dieser Eindruck wird in den nach dem Trocknen fixierten Präparaten auch durch einen hellen Saum mit doppeltem Kontur, welcher den Parasiten in diesem Zustande umgiebt, hervorgerufen;

parazito da malaria, rutura total da fórma segmentada. E' o que se deduz de nossos dezenhos onde são vistos organismos atravessando a pelicula, ainda intata, e outros já no exterior, aderentes á superficie externa.

São estes os pequenos organismos, rezultantes da esquizogonia do tripanozómida no pulmão, que penetram nos glóbulos vermelhos e evolvem, chegando ao estádio de flajelados. As fórmas jovens intra-globulares aprezentam morfolojia identica á descrita nos merozoitos do pulmão; vêm-se organismos com o blefaroplasto já individualizado (Est. 10, Fig. 1) e outros sem blefaroplasto (Est. 10, Fig. 2 e 3); este se acha misturado ao nucleo. A formação do blefaroplasto nas fórmas intra-globulares da ultima categoria dá-se por divizão heteropolar do nucleo, conforme indica nosso dezenho. Aí se vê o blefaroplasto, já diferenciado, ligado ainda ao nucleo pelo fuzo central da divizão heteropolar. Devemos referir aqui a necessidade de preparados muito bem sucedidos para o estudo das fórmas jovens intra-globulares, as quais, por outro lado, só se encontram, em grande abundancia, em certas fazes da infecção, especialmente na faze inicial.

Evolução do Schizotrypanum cruzi no organismo do inséto transmissor.

A maioria de nossas experiencias sobre a evolução do *Schizotrypanum cruzi*, no organismo do *Conorhinus*, tem sido realizadas em larvas novas do hemiptero, nacidas no laboratorio. Os insétos adultos e as ninfas, quando colhidos em rezidencias de individuos na condição morbida referida, aprezentam, quazi em totalidade, flajelados no intestino médio e no reto, pelo que não constituem material de escolha para observações sistematicas sobre o ciclo exojeno do parazito.

Da condição infecioza de larvas, quando mantidas em suas sédes naturais, não temos conhecimento, por emquanto; aquellas, porém, nacidas no laboratorio, embóra de ovos postos por insétos que aprezentam flajelados no intestino, não se mostram infetadas. E, para a verificação necessaria da hipoteze de que os

doch ist derselbe aus der Gerinnung der Zellenoberfläche anhängender Substanzen zu erklären. Uebrigens beobachtet man ein gleiches Bild bei den ruhenden Amöben, besonders in Agarkulturen, an lebendem sowohl, wie an fixiertem Material.

Die segmentierten Formen des Parasiten zeigen in Hinsicht auf die Struktur der Merozoiten eine doppelte Form, welche — in nach SCHAUDINN fixierten und nach ROSENBUSCH gefärbten Präparaten — gut studiert wurden. Auf diese Weise fand ich zwei deutlich verschiedene Strukturen: einmal zeigen die Merozoiten einen runden Kern, welcher ein kleines Caryosom und eine deutliche, von dünner Membran begränzte, Kernsaftzone aufweist (Taf. 13, Fig. 26), wobei kein Blepharoplast gefunden wird; im anderen Falle haben sie einen Kern mit grösserer Chromatinmenge und einen Caryosom, welches grösser als bei den vorigen Formen, einheitlich oder aus zwei Lappen gebildet ist; hier sieht man fast immer den Blepharoplasten am dünnen Ende des Parasiten liegend und mit dem Kerne durch ein Chromatinfilament verbunden (Tafel 13, Fig. 25, 27 und 28) oder auch nahe am Kerne gelegen und kaum von demselben differenziert. In derselben Teilungsform findet man zuweilen, in Hinsicht auf die Lage der Blepharoplasten, verschiedene Formen der Merozoiten, wie man leicht in der Fig. 27, Taf. 13 erkennen kann. Die Merozoiten der zuerst beschriebenen Struktur, welche wir als weibliche Form auffassen, sind ausserdem kleiner als die anderen, die wir für männliche Elemente halten. Es ist auch anzunehmen, dass die Teilungsformen, deren Teilstücke sich im Blepharoplasten schon individualisiert zeigen, denjenigen Trypanosomen entsprechen, welche den Blepharoplasten beibehalten haben, während die anderen die Schizogonie des Flagellaten darstellen, welche — bei der Abrundung in der Lunge — den Blepharoplasten mit der Geissel abgestossen haben. Bei, nach GIEMSA gefärbten, Präparaten kann man einige Einzelheiten der beschriebenen Strukturen erkennen, besonders die Gegenwart oder das Fehlen des Blepharoplasten (Taf. 11, Fig. 42, 43, 44 und 46). Doch zeigt sich hier der Kern ohne erkennbare Struktur, als

flajelados das larvas em experiencia fossem parazitos naturais dellas, transmitidos por herança e cultivados no sangue injerido, procedemos, em muitas de nossas pesquizas, de modo a izentar os rezultados daquella cauza alegavel de erro. Assim é que dividiamos a coleção de larvas, nacidas dos ovos de determinada postura, em duas partes, alimentando uma dellas em animal infetado e a outra em animais indenes. A auzencia, multiplas vezes verificada, de flajelados no tubo dijestivo das larvas nutridas em animais normais, com a prezença simultanea de parazitos nas outras, elimina, de uma vez, a objeção possivel de infeção hereditaria do inséto e de cultura, nelle, de fórmas parazitarias preexistentes.

Algumas das fazes do ciclo evolutivo do flajelado foram verificadas em insétos adultos, nos quais, aliaz, repetimos muitas vezes as observações feitas nas larvas. Nas ninfas as pesquizas encontram maior dificuldade, porque nellas o sangue, na porção quilifica do intestino médio, sofre modificações rapidas, transformando-se desde o 3.º ao 4.º dia apoz a injestão, em massa extremamente compata e dura, na qual a fixação e coloração do parazito tornam-se quazi impossiveis.

O tubo dijestivo das larvas de *Conorhinus*, de 15 a 20 horas, apoz a primeira injestão de sangue, aprezenta, em relação ao conteúdo, duplo aspeto: Na porção quilifica do intestino médio, que se mostra dilatada ao extremo, ovoide, encontra-se sangue vermelho, em via de dijestão; na porção cilindrica, estreita, encontra-se liquido negro, granulozo, que reprezenta o rezultado da dijestão do sangue. Depois de 30 horas aparece no conteúdo liquido amarelado. A permanencia de sangue no intestino quilifico é longa, sendo elle aí encontrado até o 5.º dia depois da injestão.

Nos insétos adultos, recentemente alimentados, o aspeto do tubo dijestivo é identico, com pequenas variantes, ao das larvas; naquelles, porém, deixados em jejum desde alguns dias, 8 pelo menos, a porção quilifica não aprezenta sangue, contendo só um liquido incolor espumozo.

eine kompakte, gewöhnlich zweilappige Chromatinmasse (Taf. 11, Fig. 45).

Wie es scheint, schlüpfen die Merozoiten einzeln aus dem von der umgebenden Membran begrenzten Raume aus, indem es hier nicht, wie im Falle der Malariaparasiten, zu einem gänzlichen Zerfall der Teilungsform kommt. Dies kann man aus unseren Zeichnungen ersehen, wo man Organismen erkennt, welche die noch erhaltene Membran durchsetzen und andere schon freiliegende, welche der äusseren Fläche anhaften.

Diese kleinen aus der Schizogonie in der Lunge hervorgehenden Organismen sind es, welche in die roten Blutkörperchen eindringen und sich zur Phase von Flagellaten entwickeln. Die jungen endoglobulären Formen zeigen eine identische Morphologie, wie die beschriebenen Merozoiten der Lunge, indem man Organismen mit schon individualisierten Blepharoplasten sieht, wobei derselbe noch mit dem Kern vereinigt ist (Tafel 10, Fig. 1), neben anderen ohne solchen (Taf. 10, Fig. 2 und 3).

Die Bildung des Blepharoplasten in der letzten Art von intraglobulären Formen erfolgt durch heteropolare Kernteilung, wie unsere Zeichnung zeigt. Hier sieht man den Blepharoplasten schon differenziert, aber noch mit dem Kerne durch die Centralspindel der heteropolaren Teilung verbunden. Ich muss hier die Notwendigkeit gut gelungener Präparate für das Studium der jungen intraglobulären Formen betonen; letztere finden sich überdies nur in gewissen Phasen, besonders zu Beginn der Infektion, in grosser Menge.

Entwicklung des «Schizotrypanum cruzi» im Organismus des Ueberträgers.

Die Mehrzahl meiner Versuche über die Entwicklung des *Schizotrypanum cruzi* im Organismus des *Conorhinus* stellte ich an jungen Larven dieser Wanze an, welche im Laboratorium ausgeschlüpft waren. Erwachsene Insekten und Nymphen, welche in den Wohnungen von Patienten mit den bereits geschilderten Krankheitserscheinungen gesammelt wurden, zeigten fast durchwegs Flagellaten im Mittel- und Enddarm, weshalb sie

Nas ninfas, desde o 5.º dia, o sangue, na porção quilifica do tubo dijestivo, transforma-se em massa compata, onde as pesquizas são dificeis.

As larvas só aceitam refeição 4 ou 5 dias apoz a eclozão. D'aí em diante, embóra com permanencia de sangue no intestino quilifico, sugam facilmente de 3 em 3 dias, repletando-se a cada refeição, ficando então com o abdome muito aumentado, de fórma ovoide.

De numerozas experiencias, realizadas sobre a evolução do *Schizotrypanum cruzi* no organismo do *Conorhinus*, temos colhido rezultados do mais alto interesse, quer para a biolojia particular daquelle flajelado, quer para o ponto de vista geral, para as questões de doutrina relativas ao mecanismo da transmissão dos hemoflajelados pelos invertebrados. Existem ainda, é certo, nesta parte de nosso trabalho, alguns pontos importantes não esclarecidos e cuja solução nos preocupa atualmente; do que ha feito, porém, será talvez possivel tirar ilações aproveitaveis ás pesquizas similares, achando-se, em nossos rezultados, esclarecidos muitos fenomenos, até aqui obscuros, do papel dos hospedeiros intermediarios nas tripanozomiazes.

Exporemos primeiro, simplesmente, nossas observações, estudando as transformações morfolojicas do parazito nas diversas fazes do ciclo; em considerações finais procuraremos então interpretar os fatos adquiridos, concluindo de acordo com as experiencias realizadas.

Decorridas 6 horas apoz a injestão, pelo *Conorhinus*, de sangue contaminado, têm lugar as primeiras modificações evolutivas do parazito.

O blefaroplasto, que nos organismos normais se acha muito proximo ou exatamente na extremidade posterior da celula, caminha dalí para as proximidades do nucleo, pondo-se em contato intimo com elle (Est. 11, Fig. 47 a 55). Si ha fuzão do blefaroplasto com o nucleo principal, não o sabemos com segurança, sendo, porém, provavel que isso aconteça, porquanto, em muitas fórmas, neste momento o blefaroplasto é visto no interior do nucleo, constituindo aí um corpusculo mais intensamente córado.

kein geeignetes Material für systematische Beobachtungen über den exogenen Entwicklungszyklus des Parasiten bilden.

Ueber die Infektiosität von Larven an ihrem natürlichen Fundort habe ich zur Zeit keine Erfahrung; jedoch zeigten sich die im Laboratorium gezüchteten nicht infiziert, obwohl die Eier von Exemplaren stammten, welche Flagellaten im Darme zeigten.

Es erschien notwendig, die Hypothese zu prüfen, dass die Flagellaten der beim Versuche gebrauchten Larven natürliche Parasiten derselben seien, die erblich übertragen werden und sich nach der Blutaufnahme vermehren; ich ging daher bei vielen meiner Untersuchungen so vor, dass ich die Möglichkeit dieser Fehlerquelle ausschloss. Ich teilte deshalb die, aus gleichzeitig abgelegten Eiern, ausgeschlüpften Larven in zwei Gruppen, von denen eine an einem infizierten Tiere, die andere an gesunden Tieren ernährt wurde. Die vielfach festgestellte Abwesenheit der Flagellaten im Darme der mit dem Blute normaler Tiere ernährten Larven und das gleichzeitige Vorkommen der Parasiten bei den andern schliesst vollständig den Einwand aus, dass eine hereditäre Infektion des Insektes und eine in demselben erfolgte Vermehrung präexistierter Parasiten vorliege.

Einige Phasen des Entwicklungszyklus der Flagellaten wurden bei erwachsenen Insekten festgestellt, bei welchen wir übrigens die an den Larven gemachten Beobachtungen oftmals wiederholten. Bei den Nymphen stossen die Untersuchungen auf grössere Schwierigkeiten, da bei denselben das Blut in dem chylusbildenden Teile des Mitteldarmes sich rasch verändert und vom dritten oder vierten Tage an eine äusserst kompakte und harte Masse darstellt, welche die Fixierung und Färbung des Parasiten fast unmöglich macht.

Der Darmkanal der *Conorhinuslarven* zeigt 15—20 Stunden nach der ersten Blutaufnahme eine zweifache Beschaffenheit seines Inhalts: Im chylusbildenden Teile des Mitteldarmes, welcher extrem erweitert und eiförmig erscheint, findet man rotes Blut im Stadium der beginnenden Verdauung; im engeren cylindrischen Teile ist eine schwarze körnige Flüssig-

Nesta primeira faze a maioria das fórmas já se aprezenta sem flajelo e sem membrana ondulante, o que faz acreditar seja a perda destas duas estruturas o fenomeno inicial da evolução; alguns organismos, porém, com o blefaroplasto muito proximo do nucleo, possuem ainda flajelo, cuja porção livre tem, então, maior comprimento que nos parazitos normais. Os organismos, assim modificados, tornam-se depois redondos (Est. 11, Fig. 58) e entram em multiplicação, ás vezes muita rapida, vendo-se grandes aglomerações de fórmas esfericas. Cumpre salientar que estas fórmas aparecem frequentemente sem blefaroplasto e que tambem se encontram figuras que denunciam nova formação do blefaroplasto achando-se elle ainda ligado ao nucleo principal pelo filamento central da divizão hetero-polar, e, finalmente, fórmas ha sem esta ligação entre os dois nucleos.

Estas fórmas são a principio aflajeladas e, nos preparados fixados humidos e córados pelo ROSENBUSCH, mostram a estrutura seguinte:

O plasma é alveolar, de colorido uniforme e aprezenta, na superficie, delgada camada mais condensada, que é o periplasto. O nucleo, de fórma esferica, colocado no centro da celula, mostra um grande cariozoma, em cujo centro, nos preparados mais diferenciados, é possivel, ás vezes nitidamente, verificar a prezença do centriolo (Est. 13, Fig. 9).

Em torno do cariozoma existe largo espaço claro, a zona de suco nuclear, atravessada, no sentido transversal, por finas trabeculas de linina, limitada por membrana de contornos muito regulares. Esta membrana, óra se aprezenta com aspeto homojeneo, óra mostra pequenos granulos de cromatina mais intensamente córados (Est. 13, Fig. 13) regularmente dispostos e equidistantes. A estes granulos prendem-se os filamentos de linina partidos do cariozoma.

O nucleo, assim descrito para a generalidade das fórmas observadas, aprezenta algumas variantes, relativas, sobretudo, á quantidade da substancia cromatica contida na zona do suco nuclear, onde, ás vezes, a cromatina

keit enthalten, welche das Endresultat der Blutverdauung darstellt. Nach 30 Stunden erscheinen im Rektum die Exkremente in Form einer gelblichen Flüssigkeit. Das Blut verweilt im Chylusdarm eine lange Zeit und wird daselbst noch 5 Tage nach der Aufnahme gefunden.

Bei erwachsenen, frisch gefütterten Insekten gleicht der Darmkanal demjenigen der Larven bis auf geringe Unterschiede; dagegen zeigen sie nach längerem, wenigstens 8-tägigem, Fasten im Chylusdarme nicht Blut, sondern eine farblose schaumige Flüssigkeit.

Bei den Nymphen verändert sich das Blut im Chylusdarme, wie gesagt, vom 5. Tage an in eine kompakte Masse.

Die Larven nehmen die Nahrung erst 5 bis 6 Tage nach dem Ausschlüpfen an. Von da an und trotz des Fortbestehens vom Blut im Chylusdarme, saugen sie ohne Umstände von 3 zu 3 Tagen, indem sie ihn jedes mal vollständig anfüllen, sodass der Hinterleib sehr vergrössert und eiförmig erscheint.

Aus den vielfachen Versuchen über die Entwicklung des *Schizotrypanum cruzi* in *Conorhinus* gewann ich höchst interessante Resultate, sowohl in Hinsicht auf die specielle Biologie dieser Flagellaten, als auch in Beziehung auf die allgemeine Lehre über den Vorgang der Uebertragung der Hämoflagellaten durch blutsaugende Schmarotzer. Allerdings gibt es in diesem Teile meiner Untersuchung einige Punkte, die noch unaufgeklärt sind und mich gegenwärtig beschäftigen; doch kann man wohl aus dem bereits Festgestellten Schlüsse ziehen, welche für ähnliche Untersuchungen von Nutzen sind, da sich hier die Erklärung vieler bisher dunkler Erscheinungen in Beziehung auf die Rolle des Zwischenwirtes bei Trypanosomenerkrankungen findet.

Ich gebe zuerst nur meine Beobachtungen wieder, aus welchen die morphologischen Veränderungen des Parasiten in den verschiedenen Entwicklungsstadien ersichtlich sind; hierauf werde ich die Tatsachen zu erklären und aus den zahlreichen Experimenten endgiltige Schlüsse zu ziehen suchen.

Sechs Stunden nach der Aufnahme des parasitenhaltigen Blutes durch den *Conorhinus* gehen die ersten Veränderungen des Para-

é mais abundante, constituindo, em algumas fórmas, fina rêde na superficie interna da membrana nuclear. São variações que, na teoria de HARTMANN, devem ser atribuidas ás modificações ciclicas do cariozoma (lançamento de cromatina na zona de suco nuclear) e que são comparaveis a fenomenos similares observaveis na *Amoeba tetragena*.

O blefaroplasto aprezenta aqui aspeto comparavel ao descrito nos flajelados do sangue. Nelle existe um grande cariozoma, quazi sempre constituido por espessa barra de substancia cromatica, (Est. 13, Fig. 9 e 11) curva, aprezentando concavidade voltada, — nas fórmas jovens aflajeladas — para o lado do nucleo. Cérca o cariozoma do blefaroplasto zona clara, na qual não são viziveis filamentos cromaticos; é a zona do suco nucleo-blefaroplastico limitada por delgada membrana de contornos pouco regulares.

A pozição do blefaroplasto é, como já dissémos, variavel, achando-se, óra colocado no interior do nucleo, em qualquer ponto da zona do suco nuclear, óra aderente á superficie externa da membrana delle, óra, finalmente, distante do nucleo, a este ligado, ás vezes, pelo filamento central da divizão hetero-polar.

Nos preparados córados pelo GIEMSA, nesta como nas fazes seguintes da evolução exojena do flajelado, encontram-se granulações córadas em vermelho intenso, de dimensões variaveis. São identicas ás descritas por ROSENBUSCH nas culturas de hemoproteo e parecem ser granulações de volutina (SWELLENGREBEL).

A formação do aparelho flajelar inicia-se, muitas vezes, nestas fórmas esfericas, encontrando-se então, (Est. 13, Fig. 9, 11 e 12) como rezultado da divizão heteropolar do blefaroplasto, um cone de fibrilas, o *fuzo central com o rizoplasto do centro*, que aprezenta no apice um granulo de substancia cromatica, o *corpusculo bazal*, orijem do flajelo. Algumas vezes, nas fórmas esfericas, o flajelo só tem porção intra-celular, não existindo ainda, aí, flajelo livre; em alguns organismos, porém, já se encontra flajelo livre, que, frequentemente atinje grande comprimento.

siten vor sich. Der Blepharoplast, welcher beim normalen Organismus sich sehr nahe oder ganz am Hinterende der Zelle befindet, wandert von dort in die Nähe des Nucleus und tritt mit demselben in innige Berührung. (Taf. 11, Fig. 47 und 55). Ob eine Verschmelzung des Blepharoplasten mit dem Hauptkerne stattfindet, weiss ich zwar nicht gewiss, doch ist es wahrscheinlich, da man bei vielen Formen zu dieser Zeit den Geisselkern im Innern des Nucleus sieht und zwar in Gestalt eines stärker gefärbten Körnchens.

In diesem ersten Stadium zeigt sich die Mehrzahl der Formen bereits ohne Geissel und undulierende Membran, sodass man den Verlust dieser beiden Strukturen als die erste Erscheinung der Entwicklung auffassen kann; doch besitzen einige Formen, deren Blepharoplast dem Kerne sehr genähert ist, noch eine Geissel, deren freier Teil dann länger erscheint, als bei der normalen Parasitenform. Nach dieser Veränderung rundet sich der Organismus ab (Taf. 11, Fig. 58) und vermehrt sich, oft sehr schnell, durch Teilung, sodass man grosse Haufen von runden Formen sieht. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass diese Formen häufig keinen gesonderten Blepharoplast zeigen und dass man Bilder trifft, die auf eine Neuentstehung des Blepharoplasten hinweisen. So findet er sich bald im Innern des Kernes, an einem beliebigen Punkte der Kernsaftzone, bald an der Aussenfläche — der Membran anliegend oder vom Nucleus entfernt, aber mit diesem manchmal durch die Centralfaser der heteropolaren Teilung verbunden —; schliesslich kann auch eine solche Verbindung fehlen. Diese Formen sind anfangs geissellos und zeigen in feuchtfixierten und nach ROSENBUSCH gefärbten Präparaten folgende Struktur: das Plasma erscheint alveolär und zeigt in der Oberfläche eine schmale Zone stärkerer Verdichtung, welche den Periplast darstellt. Der runde, im Zentrum der Zelle gelagerte, Kern zeigt ein grosses Caryosom, in dessem Zentrum man bei gut differenzierten Präparaten oft ganz deutlich ein Centriol (Taf. 13, Fig. 9) wahrnimmt. Das Caryosom ist von einem breiten hellen Hofe, der Kernsaftzone umgeben, welche

Sobre o flajelo, geralmente na extremidade delle, é visto muitas vezes um segundo granulo cromatico, menor que o corpusculo bazal, de colorido semelhante ao daquelle. A prezença de tal corpusculo se liga ao mecanismo de formação do flajelo, reprezentando elle, de acôrdo com a teoria de SCHAUDINN, o centriolo da segunda divizão hetero-polar.

Este fato foi tambem verificado por HARTMANN nos microgámetas do proteozoma e por ROSENBUSCH em diversos tripanozómidas.

Em continuação ás fórmas precedentes encontram-se no intestino quilifico organismos mais dezenvolvidos, alguns piriformes, com extremidade afilada, pela qual emerje o flajelo, e o lado oposto mais ou menos rombo, ás vezes regularmente arredondado (Est. 13, Fig. 12, 21 e 22). Nestas fórmas, óra existe flajelo livre, óra só é encontrada a porção intracelular do flajelo; nellas a estrutura é semelhante á descrita para os organismos esfericos sendo, porém, mais acentuadas algumas das minucias estruturais que referimos. Assim é que na membrana do nucleo frequentemente são vistos os granulos cromaticos, o mais das vezes em numero de 8 (Est. 13, Fig. 21) e o blefaroplasto aprezenta estrutura nuclear mais bem caraterizada (Est. 13, Fig. 12 e 21). Nesta faze é comum observar o fenomeno de divizão prévia do nucleo, referido nos flajelados do sangue, sendo demonstrativo deste fato um dos nossos dezenhos (Est. 13, Fig. 22) no qual o cariozoma do nucleo principal mostra dois centriolos, o mesmo acontecendo ao cariozoma do nucleo-blefaroplasto. Neste os dois centriolos se acham ligados por filamento central, que é formado pela divizão do centriolo.

A pozição do blefaroplasto é aqui variavel, sendo elle encontrado quazi sempre atraz do nucleo, afastado da extremidade ponte aguda (Est. 13, Fig. 21 e 22) podendo tambem ser visto ao lado do nucleo principal.

Simultaneamente com os ultimos organismos vêm-se outros menores, geralmente aflajelados (Est. 11, Fig. 58—59) ou só aprezentando a baze do aparelho flajelar, de fórma ovoide, com a estrutura do nucleo e a do

von feinen Linienbälkchen durchsetzt und von einer regelmässig begrenzten Membran umschlossen ist. Diese Membran erscheint bald homogen, bald zeigt sie kleine Chromatin-Granula, die stärker gefärbt und regelmässig, in gleichen Abständen angeordnet sind. (Taf. 13, Fig. 13). An diese Körnchen schliessen sich die Lininfäden, welche vom Caryosom ausgehen.

Der Kern, den ich so beschrieben habe, wie er in der Regel bei den beobachteten Formen auftritt, zeigt oft eine Abänderung; dieselbe bezieht sich hauptsächlich auf die Menge der chromatischen Substanz, welche in der Kernsaftzone enthalten ist; hier tritt das Chromatin manchmal reichlicher auf, sodass es bei einigen Formen an der Innenfläche der Kernmembran ein feines Netzwerk bildet. Es sind dies Bilder, welche (nach der Theorie von HARTMANN) auf zyklische Veränderungen des Caryosoms zurückzuführen sind (Abgabe von Chromatin in die Kernsaftzone) und sich mit ähnlichen Erscheinungen bei der *Amoeba tetragena* vergleichen lassen. Ber Blepharoplast zeigt hier Aehnlichkeit mit dem Bilde, welches von Blutflagellaten beschrieben wurde; er enthält ein grosses Caryosom, welches fast immer von einem dicken und gekrümmten Chromatinbalken gebildet ist (Taf. 13, Fig. 9 und 14), welcher bei jungen geissellosen Formen mit der Konkavität dem Kerne zugewandt ist. Das Caryosom des Blepharoplasten ist von einer hellen Zone umgeben, in welcher weder Chromatin noch Linin sichtbar sind. Es ist dies seine Kernsaftzone, welche durch eine feine, nicht sehr regelmässig konturierte, Membran begrenzt wird.

In dieser und den darauffolgenden Phasen des exogenen Entwicklungszyklus des Flagellaten finden sich, in nach GIEMSA gefärbten Präparaten, intensiv rot gefärbte Granulationen von wechselnder Grösse im Innern des Plasma. Sie entsprechen den von ROSENBUSCH in den Kulturen von *Hämoproteus* beschriebenen und scheinen aus Volutin (SWELLENGREBEL) zu bestehen.

Die Bildung des Geisselapparates beginnt häufig bei diesen runden Formen; man findet dann (Taf. 13, Fig. 9, 11 und 12) als Resultat der heteropolaren Teilung des Blepharoplas-

blefaroplasto identicas á referida. Destas fórmas encontram-se frequentemente aglomerações consideraveis, o que indica, nellas, ativa multiplicação.

Divizão dos flajelados no intestino quilifico.

Em qualquer das fórmas descritas do parazito, a multiplicação, por cizão lonjitudinal, na primeira parte do intestino médio, é muito ativa, sendo encontrados organismos com nucleos e blefaroplastos multiplos, óra com 2 blefaroplastos e 1 só nucleo principal, fato o mais frequente; óra, ao contrario, com 2 nucleos principais e 1 só blefaroplasto; óra, finalmente, com igualdade das duas especies de nucleos. Tambem se observam estadios varios da divizão celular, sendo frequente, nas grandes aglomerações de fórmas esfericas ou ovoides, acharem-se os parazitos ligados entre si por meio de delgadas laminas de plasma. Variantes multiplas de aspeto são ainda vistas, relativas ao nucleo principal e ao blefaroplasto, á prezença ou auzencia de flajelos. Assim é que frequentes vezes vêm-se fórmas com um só nucleo principal e 2 blefaroplastos, cada um destes possuindo um aparelho flajelar. Parece, da maioria de aspetos observados, ser a divizão do nucleo principal quazi sempre precedida pela do blefaroplasto; aliaz nas figuras de mitoze que surpreendémos, o mais das vezes a mitoze do blefaroplasto se acha em faze mais adiantada que a do nucleo principal.

Os preparados fixados secos e córados pelo GIEMSA, nada ensinam dos fenomenos intimos dos 2 nucleos, pelo que, nossas pesquizas sobre este ponto foram feitas com o metodo de ROSENBUSCH. Não nos foi possivel, por emquanto, surpreender todas as fazes da divizão dos nucleos principal e locomotor; procedemos atualmente a novos estudos, cujos rezultados serão referidos mais tarde. Alguns estadios que observámos da mitoze do nucleo principal e do blefaroplasto são muito interessantes, merecendo expozição minucioza. As Figs. 83 – 86 da Est. 13 reprezentam fazes terminais de mitoze. Nestas mesmas figuras observam-se as telofazes

ten, einen Faserkegel, die Centralspindel, welche den Rhizoplasten umgiebt; erstere zeigt an ihrer Spitze ein Chromatinkorn, das Basalkörperchen, von welchem die Geissel entspringt.

Manchmal haben diese runden Formen keine freie Geissel, sondern nur den intracellulären Teil derselben; doch findet sich bei einem Teil der Organismen eine freie Geissel, die nicht selten eine bedeutende Länge erreicht.

An dieser Geissel, gewöhnlich an ihrem Ende, sieht man häufig ein zweites Chromatinkorn, welches kleiner ist, als das Basalkörperchen, demselben aber in der Färbung gleicht.

Das Vorkommen eines solchen Körperchens entspricht der Bildungsweise der Geissel, indem es nach der Theorie von SCHAUDINN das Centriol einer zweiten heteropolaren Teilung darstellt. Diese Auffassung ist ja auch von HARTMANN für die Mikrogameten von *Proteosoma* und von ROSENBUSCH für verschiedene Trypanosomiden begründet worden.

Einer weiteren Entwicklung der beschriebenen Form entsprechend, findet man im Chylusdarme Organismen, die zum Teil birnförmig sind; vom zugespitzten Ende entspringt die Geissel, während das andere mehr oder weniger stumpf und nicht selten regelmässig gerundet erscheint (Tafel 13, Fig. 12, 21 u. 22). Bei diesen Formen findet sich bald eine freie Geissel, bald nur der intracelluläre Teil einer solchen; ihre Struktur gleicht derjenigen der sphärischen Organismen, doch sind einige der beschriebenen Strukturdetails deutlicher ausgeprägt; so sieht man in der Kernmembran häufig Chromatingranula, gewöhnlich deren acht, (Taf. 13, Fig. 21), und der Blepharoplast zeigt eine deutlichere Kernstruktur (Taf. 13, Fig. 12, u. 21). In dieser Phase beobachtet man häufig die, schon von den Blutflagellaten bekannte, vorläufige Kernteilung, wie dies eine meiner Zeichnungen (Tafel 13, Fig. 22) darstellt, in welcher das Caryosom des Hauptkernes zwei Centriolen zeigt, wie es auch bei den Caryosom des Blepharoplastkernes der Fall ist. Bei diesem finden sich die Centriolen an beiden Enden verbunden durch die Fibrille der Centralfaser, welche durch Teilung des Centriols selbst gebildet wird.

Auch hier ist die Lage des Blepharoplasten

de divizão do blefaroplasto e do nucleo principal. No blefaroplasto, ligando as duas metades da figura, permanece o filamento central do fuzo, cujas extremidades prendem-se aos dois centriolos colocados nos centros dos cariozomas. Num destes ha divizão precoce do centriolo, destinada, talvez, á formação do aparelho flajelar ou á nova mitoze do blefaroplasto. A mitoze do nucleo principal se acha em estadio mais atrazado, vendo-se as duas metades da figura ligadas ainda pelo fuzo central da divizão *(Centralspindel)* em cujo centro existe o filamento central *(Centralfaser)*, que tem nas extremidades os dois centriolos. Os novos cariozomas já se acham organizados, e tambem as zonas de suco nuclear, com as membranas envolventes. Fatos similares vêm demonstrados á Fig. 10 da Est. 13. A Fig. 83 da Est. 13 reprezenta a faze terminal da mitoze do nucleo principal, achando-se os 2 nucleos filhos ligados pelo *Centralspindel* (fuzo central e filamento). As substancias dos dois cariozomas aprezentam-se aí dispostas em dois cones, a cujos apices se acham prezas as extremidades do fuzo. Nas Figs. 84 e 85 da Est. 13 vêm-se ainda fazes terminais de mitozes, sendo de notar aí a divizão do centriolo de alguns blefaroplastos.

Estas observações são relativas ás fórmas esfericas aflajeladas, ficando para mais tarde a referencia de fenomenos similares que temos observado em fórmas flajeladas, quer nas fórmas novas, quer em organismos critidiais completamente dezenvolvidas.

Devemos salientar aqui a evidencia do papel do centriolo nas mitozes do nucleo principal e do blefaroplasto, atuando elle, cuja divizão precede sempre á das outras partes do nucleo, como o orgão orientador do fenomeno. E' esta nova demonstração, bem clara, da teoria de v. PROWAZEK e HARTMANN, para quem o centriolo do cariozoma reprezenta, na mitoze dos protozoarios, função identica á do centriolo do centrozomio nas celulas dos metazoarios. Aliaz, observações multiplas sobre fenomenos de divizão nuclear, em outros grupos de protozoarios, fazem-nos absolutamente convencido das idéas daquelles inves-

eine wechselnde; gewöhnlich findet man ihn hinter dem Nucleus, entfernt vom zugespitztem Ende (Taf. 13, Fig. 21 u. 22); doch kann er auch neben dem Hauptkerne getroffen werden.

Gleichzeitig mit den letztbeschriebenen Formen findet man andere kleinere und gewöhnlich geissellose (Taf. 13, Fig. 58-59) oder nur die Basis derselben zeigende, von ovaler Form und mit, wie oben beschrieben, gebildetem Kerne und Blepharoplasten. Dieselben finden sich oft in beträchtlichen Gruppen, was eine rasche Vermehrung andeutet.

Teilung der Flagellaten im Chylusdarme.

Bei allen den oben beschriebenen Parasitenformen ist die Vermehrung durch Längsteilung im Anfangsteile des Mitteldarmes sehr lebhaft, wobei man Exemplare mit mehrfachen Blepharoplasten und Kernen findet; man trifft entweder 2 Blepharoplasten und einen Hauptkern, was am häufigsten vorkommt, oder im Gegenteil 2 Hauptkerne neben einem Blepharoplasten oder endlich beide Kernarten in der gleichen Zahl. Auch beobachtet man verschiedene Stadien der Zellteilung, wobei man in den grossen Haufen von runden und eiförmigen Formen nicht selten durch dünne Plasmenlamellen verbundene Parasiten antrifft. Auch finden sich verschiedene Kombinationen in Beziehung auf Hauptkern und Blepharoplast und das Fehlen oder Vorhandensein von Geisseln.

So findet man häufig Formen mit einem Hauptkern und 2 Blepharoplasten, von denen jeder einen Geisselapparat besitzt. Nach der Mehrzahl der Beobachtungen scheint die Teilung des Hauptkernes gewöhnlich derjenigen des Blepharoplasten zu folgen; übrigens findet sich auch bei den Teilungsphasen, die ich beobachtete, gewöhnlich die Mitose des Blepharoplasten weiter vorgerückt, als diejenige des Hauptkernes.

Trocken fixierte und nach GIEMSA gefärbte Präparate geben über die Einzelheiten der Kernteilung keinen Aufschluss, weshalb ich meine diesbezüglichen Untersuchungen nach ROSENBUSCH'scher Methode anstellte. Bis jetzt gelang es mir nicht, alle Phasen der Teilung

tigadores. Por outro lado, a mitoze do blefaroplasto, que neste parazito aprezenta aspeto de grande nitidez e regularidade, vem confirmar ainda a natureza nuclear daquelle orgão, cuja estrutura, na condição dinamica, quanto na estatica, é inteiramente comparavel á do nucleo principal.

Os nossos rezultados estão, por conseguinte, em pleno acordo com os novos achados de ROSENBUSCH sobre outros tripanozómidas e confirmam a interpretação sobre as condições do nucleo da celula dos tripanozómidas dada por SCHAUDINN e seus sucessores.

Flajelados da porção posterior ou intestiniforme do intestino médio do Conorhinus.

Ainda na porção quilifica do intestino médio, 25 horas apoz a injestão de sangue, encontram-se novas fórmas parazitarias que reprezentam estados evolutivos mais adiantados das fórmas descritas. Aí, porém, tais organismos são raros, parecendo que pouco tempo permanecem, apoz sua formação, neste segmento do tubo dijestivo, depressa passando para a porção cilindrica posterior, onde são vistos em grande numero.

Na porção intestiniforme do intestino médio, desde a 15.ª hora, encontra-se, como dissemos, liquido negro, que reprezenta faze mais adiantada da dijestão do sangue; os parazitos, porém, só aparecem neste liquido depois da 25.ª hora e aí, devido á rapida multiplicação, tornam-se numerozissimos, permanecendo indefinidamente vivos, embóra deixadas as larvas sem alimentação, infetante ou não, durante longos dias.

Estes flajelados são de morfolojia inteiramente identica á dos que existem no intestino de conorrinos adultos, colhidos nas zonas infetadas. Tambem nestes, privados de alimentação por muito tempo, os flajelados permanecem em plena atividade, mostrando mesmo fenomenos de multiplicação.

Os flajelados desta parte do intestino médio aprezentam grande variedade de aspetos, predominando, porém, os organismos critidiformes adultos Fig. 13—20, Est. 13. Estes

des Haupt- und lokomotorischen Kernes aufzufinden; doch bin ich mit weiteren Beobachtungen beschäftigt, über deren Resultate später berichtet werden soll. Einige Stadien der Mitose des Hauptkernes und Blepharoplasten, die ich beobachtete, sind sehr interessant und verdienen eine nähere Beschreibung. Die Fig. 83—86 der Taf. 12 zeigen die Endstadien der Mitose; in denselben Figuren sieht man die Telophasen der Teilung des Blepharoplasten und Hauptkernes. Die beiden Hälften der Figur verbindend, ist im Blepharoplasten die Centralfaser der Spindel erhalten und ihre Enden verbinden die beiden Centriolen, welche im Centrum der Caryosome liegen. Bei einem derselben bemerkt man eine vorzeitige Teilung des Centriols, die scheinbar für die Bildung des Geisselapparates oder eine neue Mitose des Blepharoplasten bestimmt ist. Die Mitose des Hauptkernes ist weniger vorgerückt, indem die Hälften der Teilungsfigur noch durch die Centralspindel und die, in der Mitte gelegene, Centralfaser mit den an beiden Enden gelegenen Centriolen verbunden sind. Die neuen Caryosomen, die Kernzonen und die umhüllenden Membranen sind bereits gebildet. Aehnliche Vorgänge erkennt man in der Fig. 10, Taf. 13. Die Fig. 13 der Taf. 12 zeigt das Ende der Mitose des Hauptkernes, wobei die beiden Tochterkerne durch Centralspindel und -Faser verbunden sind. Die Substanz der beiden Caryosomen erscheint hier in 2 Kegel angeordnet, an deren Spitzen sich die Enden der Spindel anlegen. In den Fig. 84 und 85 der Taf. 12 sieht man auch noch Endstadien der Mitose, wobei man die Teilung der Centriolen einiger Blepharoplaste erkennt.

Diese Beobachtungen beziehen sich auf die Mitose der runden, geissellosen Formen; auf eine spätere Zeit verschiebe ich den Bericht über ähnliche Erscheinungen, die ich an geisseltragenden Formen und zwar teils an jungen Stadien, teils an voll entwickelten Crithidienformen, beobachtet habe.

Ich muss hier die Rolle der Centriolen bei den Mitosen des Kernes und des Blepharoplasten hervorheben, welche sie unzweifelhaft als orientierende Organe des Teilungsphänomens spielen, indem ihre Teilung immer derjenigen

são parazitos alongados, de largura variavel, com ambas as extremidades ponteagudas, aprezentando, na coloração pelo metodo de ROSENBUSCH, plasma alveolar. A extremidade anterior prolonga-se em longo filamento delgado; a posterior, óra termina abruptamente em ponta aguda, óra se mostra arredondada, óra, finalmente, é tambem longa e aguda, menos delgada que a oposta.

O nucleo aprezenta estrutura semelhante á das fórmas anteriores: um cariozoma, em cujo centro é muitas vezes apreciavel centriolo, zona de suco nuclear, atravessada de finas e regulares trabeculas de linina, membrana onde, de regra, é vizivel a diferenciação de 8 ou mais granulos de cromatina. Nas fórmas longas o nucleo principal acha-se situado mais ou menos no meio do eixo longitudinal do parazito.

O blefaroplasto mostra, ainda aqui, a nitida estrutura nuclear já descrita. Está situado, óra para frente do nucleo principal, sempre em pozição lateral, nunca no eixo longitudinal da celula, óra ao lado do nucleo principal. Nunca, nos flajelados desta zona do tubo dijestivo, é visto o blefaroplasto atraz do nucleo principal.

A baze do aparelho flajelar não oferece neste cazo outras minucias além das referidas; nestes organismos, porém, existe a membrana ondulante, colocada sobre todo o prolongamento delgado anterior da celula e aprezentando, de regra, muitas ondulações.

Além destes flajelados, encontram-se outros, piriformes ou esfericos, nos quais existe prolongamento plasmatico muito fino, munido de membrana ondulante e de flajelo; nestes o flajelo livre é, ás vezes, muito longo, em grande desproporção com as dimensões da celula (Est. 13, Fig. 87).

Estadios intermediarios multiplos, no ponto de vista do aspeto e da fórma geral, existem entre os organismos esfericos pequenos e as fórmas adultas longas de critidias; todos os parazitos, porém, encontrados neste segmento do intestino médio, aprezentam-se munidos de flajelo.

der anderen Kernbestandteile vorangeht. Es bildet dies einen deutlichen Beweis zu Gunsten der Theorie von v. PROWAZEK und HARTMANN, nach welcher das Centriol der Caryosome bei der Mitose der Protozoen dieselbe Funktion hat, wie die Centrosome der Metazoenzelle. Uebrigens haben mich auch vielfältige Beobachtungen über die Kernteilung bei anderen Protozoengruppen vollständig von der Richtigkeit ihrer Anschauungen überzeugt. Auf der anderen Seite dient die, bei diesen Parasiten sehr deutliche und regelmässige, Mitose des Blepharoplasten zur weiteren Bestätigung der Kernnatur dieses Organes, dessen Struktur, ebensowohl im aktiven, wie im Ruhezustande vollständig derjenigen des Hauptkernes gleicht. Meine Resultate stehen somit in vollständiger Uebereinstimmung mit den neuen Befunden von ROSENBUSCH an anderen Trypanosomen und bestätigen die Auffassung der Kernverhältnisse der Trypanosomenzelle, wie sie von SCHAUDINN und seinen Nachfolgern vertreten wird.

Flagellaten des hinteren oder cylindrischen Teiles des Mitteldarmes des Conorhinus.

Noch im vorderen Teile des Mitteldarmes findet man 25 Stunden nach der Blutaufnahme weitere Parasitenformen, welche vorgerückteren Entwicklungsstadien der bereits beschriebenen Formen entsprechen. Doch sind daselbst solche Formen selten und es scheint, dass sie nach ihrer Bildung nur kurze Zeit in diesem Darmabschnitt verbleiben, um bald in den hinteren cylindrischen Teil überzutreten, woselbst sie in grosser Zahl zu finden sind. Im cylindrischen Teile des Mitteldarmes findet man, wie gesagt, von der 15. Stunde an eine schwarze Flüssigkeit, welche das Produkt einer vorgeschritteneren Verdauung des Blutes darstellt; die Parasiten erscheinen jedoch in dieser Flüssigkeit erst nach 25 Stunden und werden hier in Folge einer rapiden Vermehrung äusserst zahlreich, wobei sie sich unbeschränkte Zeit erhalten, trotzdem man die Larven während vieler Tage ohne infektiöse oder anderweitige Nahrung belässt. Diese Flagellaten gleichen in ihrer Morphologie vollständig denjenigen im Darme erwachsener

Nos preparados fixados secos e córados pelo GIEMSA ha só que referir a prezença de abundantes granulos vermelhos, irregularmente espalhados pelo plasma e que são, provavelmente, rezultantes do metabolismo celular. (Fig. 62-69, Est. 11)

Rapida multiplicação experimenta o parazito nesta faze evolutiva, sendo, por isso, encontradas grandes aglomerações de fórmas, ligadas entre si por delgadas pontes plasmaticas, vendo-se tambem critidias plurinucleadas e divizões celulares incompletas. Os flajelados adultos dividem-se lonjitudinalmente, aprezentando diversos aspetos, desde a divizão lonjitudinal binaria, a mais comum, até a divizão lonjitudinal multipla, na qual fórmas aberrantes de critidias, muito volumozas, mostram muitos nucleos.

Os organismos descritos permanecem por tempo indeterminado no intestino e são encontrados nos escrementos, em pequeno numero. Não conhecemos qualquer outra faze que possa ser interpretada como a continuação desta, apezar das numerozas pesquizas realizadas.

Em todos os insetos experimentados, sem uma unica exceção, os fatos passam-se conforme acabámos de referir; algumas experiencias, porém, deixam observar ainda outros fenomenos diferentes que, embóra não esclarecidos de modo satisfatorio, devem ser expostos desde já, visto reprezentarem, a nosso ver, fatos de grande importancia na biolojia do parazito:

Das larvas experimentalmente infetadas algumas mostram, ao lado dos organismos descritos, outros de morfolojia completamente diversa. Assim é que, de 20 a 30 hóras apoz a injestão de sangue, encontrámos em muitas larvas organismos esfericos (Est. 12, Fig. 78—82) munidos de camada periferica condensada, semelhante a membrana, e possuindo grande nucleo que ocupa talvez 2 terços da celula. Este nucleo aprezenta, óra na periferia, óra no centro, um corpusculo de cromatina intensamente córado, com o aspeto de blefaroplasto; este é visto ainda separado do nucleo, colocado na superficie do organismo e fre-

*Conorhinus*wanzen, welche in infizierten Zonen gesammelt wurden. Auch bei diesen bleiben die Flagellaten in voller Tätigkeit, selbst bei lang andauerndem Nahrungsmangel, und zeigen sogar Vermehrungserscheinungen.

In diesem Teile des Mitteldarmes weisen die Flagellaten sehr verschiedene Formen auf, unter denen jedoch die erwachsenen Organismen vom Crithidiatypus vorwiegen. Diese Parasiten sind länglich, von wechselnder Breite, an beiden Enden zugespitzt und zeigen bei der Färbung nach ROSENBUSCH ein alveoläres Protoplasma. Das Vorderende verlängert sich in einen langen dünnen Faden; das hintere endet plötzlich mit einer scharfen Spitze oder zeigt sich abgerundet; endlich kann es auch lang und zugespitzt, aber weniger schlank als das entgegengesetzte, gefunden werden.

Der Kern zeigt eine ähnliche Struktur, wie bei den früher beschriebenen Formen, nämlich: ein Caryosom, in dessen Zentrum man häufig ein Centriol erkennt, eine Kernsaftzone, die von feinen, regelmässigen Linin-Bälkchen durchsetzt ist und eine Kernmembran, von der in der Regel 8 oder mehr Chromatinkörner sich abheben; bei den längeren Formen befindet sich der Hauptkern ungefähr in der Mitte der Längsachse des Parasiten.

Der Blepharoplast zeigt auch hier die bereits beschriebene, deutliche Kernstruktur. Er befindet sich bald zur Seite des Hauptkernes, bald vor demselben, aber immer in seitlicher Lage, niemals in der Längsachse der Zelle; dagegen wird bei den Flagellaten aus diesem Teile des Darmtraktes der Blepharoplast niemals hinter dem Haupkerne gefunden.

Die Basis des Geisselapparates zeigt nur die bereits beschriebenen Details; dagegen findet man bei diesen Organismen eine undulierende Membran, welche dem ganzen dünnen Fortsatze des Vorderendes der Zelle folgt und gewöhnlich viele Wellen zeigt; ausser diesen länglichen Flagellaten findet man andere von Birn- oder Kugelform, bei welchen ein sehr dünner, mit Geissel und undulierender Membran versehener, Plasmavorsatz vorkömmt; bei diesen ist die freie Geissel nicht selten sehr lang und ganz ausser Verhältnis mit den Dimensionen der Zelle (Taf. 2, Fig. 87).

quentemente aprezenta-se bilobado, como se fôra o rezultado da união de 2 corpusculos identicos (Est. 12, Fig. 80—81).

A quantidade destas fórmas era muito variavel, sendo encontradas com abundancia em todas as larvas alimentadas em certos animais e raras ou auzentes nas alimentadas em outros. Do determinismo do aparecimento destes organismos nada sabemos ainda, esperando esclarecel-o bem depressa; é, porém, de notar a frequencia com que os encontrámos nas larvas alimentadas em *Callithrix*, com infeção antiga, ao passo que nas alimentadas em cobaias, mesmo infetadas desde muito, com numerozos parazitos, rarissimas vezes observámos aquellas fórmas. Infelizmente só uzámos, nas pesquizas deste ponto, a fixação a seco e a coloração pelo metodo de GIEMSA, o que explica, em parte, a dificuldade na interpretação dos aspetos observados.

Importantes são ainda as fórmas de esquizogonia que observámos em 3 experiencias, de 140 a 150 horas apoz a refeição, no sangue, em via de dijestão, contido na porção quilifica do intestino médio. Estas se aprezentam constituidas de 8 pequenos organismos mais ou menos ovoides, prezos por massa de plasma central (Est. 12, Fig. 89). Em cada existe um nucleo longo e numa das extremidades um corpusculo de cromatina mais intensamente córado, com o aspeto de blefaroplasto. Aquellas unidades da fórma esquizogonica são vistas, no mesmo material, já separadas (Est. 12, Fig. 90—97), óra em aglomerações, óra izoladas; mostram nitidamente um nucleo principal e um blefaroplasto, tendo, o primeiro, a cromatina, ás vezes, disposta em longa fita e outras já condensada em corpo ovoide. O blefaroplasto, óra está unido ao nucleo, numa das extremidades (Est. 12, Fig. 91), óra delle afastado, ligado ou não por filamento cromatico (Est. 12, Fig. 95—97). E' aspeto estrutural bem tipico dos tripanozómidas, similar, em alguns pontos, ao que se observa nas unidades da esquizogonia no pulmão e tambem em alguns estadios jovens do flajelado, no sangue. Não é possivel duvidar de que estes organismos reprezentam

Zwischen den kleinen runden und den erwachsenen langen crithidienartigen Formen finden sich vielfache Uebergänge in der allgemeinen Gestalt; doch zeigen alle parasitären Formen aus diesem Teile des Mitteldarmes eine Geissel.

Bei trocken fixierten und mit GIEMSA gefärbten Präparaten ist noch das Vorkommen zahlreicher roter Körnchen zu verzeichnen; dieselben sind unregelmässig im Plasma verteilt und müssen wahrscheinlich als Produkte des Stoffwechsels aufgefasst werden (Fig. 62-69, Taf. 11).

In dieser Entwicklungsphase des Parasiten findet eine rasche Teilung statt, weshalb man oft eine grosse Anhäufung von Formen findet, welche unter sich durch feine Plasmabrücken verbunden sind; auch findet man Crithidienformen mit mehreren Kernen und unvollständige Zellteilungen. Die erwachsenen Flagellaten teilen sich der Länge nach und bieten verschiedene Bilder, von der einfachen longitudinalen Zweiteilung bis zur vielfachen Längsteilung, bei welcher aberrante Crithidienformen von grossem Volumen mehrfache Kerne aufweisen.

Die beschriebenen Organismen verharren unbestimmte Zeit im Darme und werden in geringer Zahl in den Exkrementen gefunden. Trotz zahlreicher Untersuchungen kenne ich keine andere Phase, welche als ein weiterer Zustand aufgefasst werden könnte.

Bei sämtlichen untersuchten Insekten beobachteten wir ausnahmslos die soeben beschriebene Reihe von Erscheinungen; doch wurden in einigen Versuchen noch andere Vorkommnisse beobachtet, welche zwar noch nicht genügend aufgeklärt sind, aber doch hier aufgeführt werden müssen, da sie meiner Ansicht nach wichtige Erscheinungen in der Biologie des Parasiten darstellen.

Bei künstlich infizierten Larven zeigen einige neben beschriebenen Formen andere von ganz verschiedener Morphologie. So finden wir 20 bis 30 Stunden nach der Blutaufnahme bei vielen Larven runde Organismen (Taf. 12, Fig. 78-82), die eine verdichtete periphere Schicht aufweisen, welche einer Membran gleicht, und ausserdem einen grossen Kern besitzen,

faze no ciclo do flajelado no inseto, restando apenas conhecer melhor as fazes precedentes e as posteriores a esta. Acreditamos, impressionado pela semelhança dos aspetos cromaticos, que as fórmas de esquizogonia reprezentam a divizão dos organismos esfericos a que nos referimos, as quais seriam, talvez, ooquinetos, rezultantes de fecundação não surpreendida.

Formas parazitarias na cavidade geral do inseto.

Encontrámos fórmas do flajelado, em 2 cazos, na cavidade geral do *Conorhinus*. Estes haviam sido colhidos em habitações infetadas e estavam sem sugar qualquer vertebrado desde muitos dias, não aprezentando vestijio de sangue no intestino quilifico, tendo, porém, no intestino posterior e nos escrementos grande numero de fórmas critidiais.

Nas observações sistematicamente realizadas não conseguimos ainda surpreender parazitos na cavidade geral, pelo que pensámos ser a permanencia delles ali muito tranzitoria, depressa passando ás glandulas salivares.

As fórmas vistas nas duas experiencias são organismos aprezentando longa faixa de cromatina no nucleo e grande blefaroplasto oval, óra situado na extremidade posterior, óra ainda distante desta; possuem membrana ondulante e flajelo livre e aprezentam organização morfologica muito semelhante á das fórmas encontradas nas glandulas salivares (Est. 11, Fig. 71-73).

Fórmas parazitarias encontradas nas glandulas salivares do Conorhinus.

Em 3 experiencias encontrámos, em «*frottis*» de glandulas salivares de conorrinos, fórmas de evolução do *Schizotrypanum cruzi*, as quais reprezentam, sem duvida, os organismos que são inoculados no vertebrado.

Uma das verificações foi feita em inseto adulto que havia picado um *Callithrix* infetado, 12 dias antes. Nesta, em exame a fresco do material das glandulas salivares (glandulas

welcher vielleicht zwei Drittel der Zelle ausfüllt. Dieser Kern zeigt bald im Zentrum, bald an der Peripherie ein intensiv gefärbtes Chromatinkörperchen vom Aussehen eines Blepharoplasten; dasselbe wird auch, vom Kerne getrennt, an der Oberfläche des Organismus gefunden und ist ausserdem oft zweilappig, als ob es aus der Vereinigung zweier gleichartigen Körperchen enstanden wäre (Tafel 12, Fig. 80—81).

Die Zahl dieser Formen war sehr schwankend; ich fand sie in grosser Zahl in allen Larven, welche an bestimmten Tieren gefüttert wurden, dagegen selten oder auch gar nicht bei solchen, deren Nahrung von anderen Tieren stammte. Ueber die Ursache des Auftretens dieses Organismus ist noch nichts bekannt, doch hoffe ich, dieselbe baldigst aufzuklären; jedenfalls ist die Häufigkeit hervorzuheben, mit welcher ich ihn bei den an seit langem infizierten *Callithrix*-Aeffchen gefütterten Larven gefunden habe, während bei andern, mit dem Blute von Meerschweinchen ernährten trotz lange dauernder Infektion und zahlreichen Parasiten im peripherischen Blute diese Formen nur sehr selten beobachtet wurden. Leider benutzte ich bei den diesbezüglichen Untersuchungen nur die trockene Fixation und Färbung nach GIEMSA, was einigermassen die Schwierigkeit der Deutung der beobachteten Bilder erklärt.

Von Wichtigkeit sind auch die Schizogonieformen, welche ich in drei Versuchen, 140 bis 150 Stunden nach der Blutaufnahme, in teilweise verdautem Blute auffand, welches im vorderen Teile des Mitteldarmes enthalten war. Diese zeigen sich aus acht kleinen, nahezu eiförmigen Organismen gebildet, welche durch eine zentrale Plasmamasse zusammenhängen (Taf. 12, Fig. 89); in jedem derselben findet sich ein länglicher Kern und an einem seiner Enden ein intensiver gefärbtes Chromatinkörperchen vom Aussehen eines Blepharoplasten. Die einzelnen Individuen der Schizogonieform werden in demselben Materiale auch getrennt (Taf. 12, Fig. 90—97), bald einzeln, bald in Haufen, gefunden und lassen einen Hauptkern und Blepharoplasten deutlich erkennen; ersterer zeigt das Chromatin manchmal in langer Band-

principais) observámos flagelados com movimentos ativos semelhantes aos dos parazitos vistos no liquido da cavidade geral. Em «*frottis*» fixados a seco e córados pelo metodo de GIEMSA, observámos 2 fórmas de aspetos bem distintos. Uma dellas aprezenta-se como organismos compridos e delgados, tendo a cromatina nuclear disposta ainda em faixa longitudinal, ocupando mais ou menos $^1/_4$ do comprimento da celula; o blefaroplasto aprezenta-se como um grande corpusculo cromatico, óra situado atraz do nucleo e deste pouco distante (Est. 11, Fig. 74 e 75) óra colocado na extremidade posterior da celula (Est. 12, Fig. 76). Em algumas fórmas não vimos flagelo nem membrana ondulante (Est. 12, Fig. 76) o que atribuimos a defeito de cóloração, porquanto em outras observações quazi todos os parazitos mostraram membrana ondulante, flajelo aderente e flajelo livre (Est. 11, Fig. 74 e 75).

A segunda fórma observada era constituida por organismo largo, possuindo blefaroplasto muito menor que o da fórma precedente e situado exatamente na extremidade posterior; um nucleo principal mais ou menos ovoide, com a cromatina de aspeto muito diverso do das fórmas delgadas. Este organismo, nas nossas observações, era muito mais raro e não observámos correspondentes delle na cavidade geral (Est. 12, Fig. 77.)

As outras duas observações de flajelados nas glandulas salivares foram feitas em insetos colhidos nas habitações infetadas. Em tal cazo, a maior quantidade de hemipteros, embora aprezentando flajelados no intestino posterior, nada mostram nas glandulas salivares; certo numero delles, porém, em relação centezimal não determinada, acha-se infetado e são infetantes, sendo vistos nas glandulas salivares os parazitos com a morfolojia descrita. Esta observação, aliaz, é confirmada nas tentativas de infeção por picada de conorrinos colhidos em rezidencias humanas, nas quais só pequena proporção de insetos é infetante.

---

form und manchmal zu einem eiförmigen Körper verdichtet. Der Blepharoplast ist bald an einem Ende des Nucleus gelegen und mit diesem verbunden (Taf. 12, Fig. 91), bald von diesem entfernt, getrennt oder durch einen Chromatinfaden verbunden (Taf. 12, Fig. 95-97). Es ist dies ein typisches Strukturbild der Trypanosomen, das in manchen Punkten demjenigen gleicht, welches man an den einzelnen Individuen der Schizogonieformen der Lunge und den jugendlichen Blutflagellaten beobachtet. Man kann nicht bezweifeln, dass diese Formen eine Phase der Entwicklung des Flagellaten im Insekte darstellen, wobei uns nur eine bessere Kenntnis der vorhergehenden und nachfolgenden Stadien fehlt. Unter dem Eindruck der Uebereinstimmung der chromatischen Bilder glaube ich, dass die Schizogonieformen die Teilung der erwähnten Formen darstellen, welche vielleicht Ookineten sind, die aus einer, nicht im Augenblicke des Bestehens beobachteten, Befruchtung hervorgehen.

Parasitäre Formen aus der Leibeshöhle des Insektes.

Ich habe zwei mal Flagellaten in der Leibeshöhle von Exemplaren von *Conorhinus* gesammelt, welche in infizierten Wohnungen gefunden waren. Sie hatten seit langer Zeit an keinem Wirbeltiere gesaugt und zeigten keine Spur von Blut im Chylusdarm, dagegen im Enddarm und in den Exkrementen eine grosse Zahl von Crithidienformen.

Bei systematisch angestellten Beobachtungen gelang es mir bisher nicht, den Parasiten in der Leibeshöhle zu treffen; ich glaube daher, dass er sich daselbst nur ganz vorübergehend aufhält, indem er sehr bald in die Speicheldrüsen übertritt.

Die Organismen, welche bei den 2 Versuchen gefunden wurden, zeigen einen langen Chromatinstreifen im Kerne und einen grossen ovalen Blepharoplasten, der bald am Hinterende, bald von demselben entfernt liegt; sie besitzen eine freie Geissel und eine undulierende Membran und zeigen eine sehr ähnliche Bildung, wie die Formen, die in den Speicheldrüsen gefunden werden (Fig. 71—73, Taf. 11).

Cultura artificial do parazito.

O *Schrizotypanum cruzi* é facilmente cultivavel em agar-sangue, segundo o metodo de NOVY e MAC NEAL. Procedemos do modo seguinte:

Sangrâmos coelhos no coração, — processo melhor que o da sangria nas carotidas, podendo ser retirados, em cada sessão, até 40 c.c.[3] de sangue, sem sacrificio do animal. — Misturâmos partes iguais de sangue desfibrinado com agar fundido e mantido a 50°. Na agua de condensação, geralmente abundante, fizémos a sementeira.

Exames sistematicos mostram as primeiras modificações do flajelado, desde a sexta hora, sendo aqui, como no tubo dijestivo do inséto, fenomenos iniciais a migração do nucleo blefaroplasto para as proximidades do nucleo principal, a perda da membrana ondulante e do flajelo e, por ultimo, o arredondamento do parazito (Est. 13, Fig. 23a-23b). Em seguida dá-se rapida multiplicação, de modo que, apoz 20 hóras, começam a aparecer na cultura novos organismos, de fórma ovoide ou esferica, rezultantes da divizão dos flajelados semeados (Est. 12, Fig. 98—103 e Est. 13, Fig. 23).

Ha agóra predominancia, a principio, de pequenos organismos piriformes aflajelados (Est. 12 e Fig. 99-102) que mostram, quando córados pelo metodo de ROSENBUSCH, estrutura identica á das fórmas similares dos conorrinos (Est. 13, Fig. 23). Nos preparados pelo GIEMSA, nestes organismos, o nucleo principal é visto como grande massa de cromatina, tendo, num dos pontos da periferia, o blefaroplasto.

Os organismos esfericos, de dimensões variaveis, não oferecem tambem outras minucias de estrutura, além das descritas no inséto. Nos preparados pelo GIEMSA, além dos granulos de volutina, vêm-se frequentemente, no plasma, muitos vacuolos.

Os organismos esfericos e piriformes se aprezentam em ajuntamentos, constituidos, ás vezes, de numerozos individuos, vendo-se entre elles muitos com os nucleos em divizão,

Parasitäre Formen in den Speicheldrüsen des Conorhinus.

Bei drei Versuchen fand ich in Ausstrichpräparaten von den Speicheldrüsen der *Conorhinus*wanzen Entwicklungsphasen des *Schizotrypanum cruzi*, die zweifellos die Form darstellen, welche auf Wirbeltiere übertragen wird. Der eine Befund wurde bei einem ausgewachsenen Conorhinus gemacht, welcher 12 Tage vorher ein Exemplar von *Callithrix* gestochen hatte. Dabei fand ich bei frischer Untersuchung des Materials der Hauptspeicheldrüsen Flagellaten, deren sehr lebhafte Bewegungen an die Parasiten aus der Leibeshöhle erinnerten. In trocken fixierten und nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen beobachtete ich zweierlei Formen von sehr verschiedenem Aussehen: eine derselben erscheint als sehr langer und dünner Organismus, dessen Kernchromatin noch als langes Band angeordnet ist, welches ungefähr dem vierten Teile der Zelle entspricht; der Blepharoplast zeigt sich als grosses Chromatinkörperchen bald hinter dem Kerne und in dessen Nähe (Tafel 11, Fig. 74 und 75), bald am Hinterende der Zelle (Taf. 12, Fig. 76), bei einigen Formen fand ich weder Geissel noch undulierende Membran (Taf. 12, Fig. 76), was ich einer fehlerhaften Färbung zuschreibe, denn in anderen Beobachtungen zeigten fast alle Parasiten eine undulierende Membran und eine zum Teile adhärente, zum Teile freie Geissel (Taf. 11, Fig. 74 und 75).

Die zweite beobachtete Form bestand in einem breiten Organismus, dessen Blepharoplast viel kleiner war, als bei der vorigen Form, dabei genau am Hinterende gelagert; sie besitzt ferner einen nahezu eiförmigen Hauptkern, dessen Chromatin sich von demjenigen der Hauptform sehr unterscheidet. Dieser Organismus war in meinen Beobachtungen viel seltener; auch habe ich in der Leibeshöhle keine entsprechenden Formen gefunden.

Die anderen beiden Beobachtungen von Flagellaten aus Speicheldrüsen wurden bei Wanzen gemacht, welche in infizierten Wóhnungen gefangen wurden. In diesem Falle

outros ligados entre si por filamentos de plasma, e, finalmente, organismos com nucleos e blefaroplastos multiplos.

Tornam-se depois flajelados estes organismos, atinjindo o estadio de critidias adultas. Nestas, como nas fórmas anteriores, a estrutura celular é de todo identica á das fazes correspondentes no invertebrado, pelo que nos dispensamos de referil-a. E tambem aqui estamos procedendo a pesquiza sobre os processos de divizão dos nucleos, dos quais daremos, mais tarde, conhecimento.

Nas culturas antigas é frequente observarem-se fórmas aberrantes de critidias, de grandes dimensões, com divizão multipla (Fig. 108 e 109 da Est. 12). As critidias adultas, simultaneamente com organismos piriformes e esfericos, permanecem longamente vivos nas culturas, até 2 mezes, sendo pozitivas, quazi sempre, as 2 primeiras sementeiras.

Nas culturas, portanto, o *Schizotrypanum cruzi* porta-se de modo identico áquelle estudado no tubo dijestivo do hemiptero, havendo perfeita semelhança em quazi todas as fazes das evoluções na cultura e no hospedeiro intermediario. Não encontrámos, porém, nas culturas artificiais, os organismos esfericos, cercados de pelicula condensada, nem as fórmas de esquizogonia assinaladas no tubo dijestivo do inséto. Em compensação, duas culturas de sangue de sagui mostraram, no fim de 10 dias, fórmas parazitarias que não haviamos observado ainda. Nestes, vimos flajelados com blefaroplasto colocado atraz do nucleo principal, achando-se este ultimo com a cromatina disposta em longa faixa lonjitudinal. E' um aspeto muito semelhante ao observado em parazitos adultos das glandulas salivares e tambem do sangue periferico.

Outra fórma tambem encontrada só duas vezes nas culturas, aprezentava-se ovoide, tendo nucleo unico com a cromatina disposta em dois lóbos. O aspeto desta fórma, nos preparados, fixados secos e córados pelo GIEMSA, lembrava muito o ooquineto do hemoproteo. Indecizas, porém, como se aprezentam, estas fazes ultimas exijem maiores e

zeigte die Mehrzahl der Hemipteren zwar Flagellaten im Hinterdarm, aber keine in den Speicheldrüsen; ein unbestimmter, aber sehr kleiner (nur nach Hundertsteln zählender) Teil war gleichzeitig infiziert und infizierend, indem er in den Speicheldrüsen die beschriebenen Parasiten enthielt. Diese Beobachtung wird übrigens bestätigt durch die Versuche, mittelst des Stiches von in menschlichen Wohnungen gesammelten Conorhinen zu infizieren, wobei nur ein kleiner Teil dieser Wanzen sich infektiös erweist.

Künstliche Kultur des Parasiten.

Das *Schizotrypanum cruzi* lässt sich leicht nach NOVY und MAC NEAL auf Blutagar züchten. Bei meinen Kulturen verfahre ich folgendermassen: Ich entnehme das Blut aus dem Herzen von Kaninchen, ein Prozess, der dem Durchschneiden der Karotiden vorzuziehen ist, da man, ohne das Tier zu opfern, in jeder Sitzung bis 40 ccm. Blut entnehmen kann. Ich mische gleiche Teile des defibrinierten Blutes mit gleichen Teilen geschmolzenen, bei 50° aufbewarten Agars und übertrage auf das gewöhnlich reichliche Kondenswasser.

Systematische Untersuchungen zeigen die ersten Modifikationen der Flagellaten von der 6. Stunde an, wobei hier, wie im Darmkanale des Zwischenwirtes, die Anfangserscheinungen folgende sind: Wanderung des Blepharoplasten in die Nähe des Hauptkernes, Verlust der Geissel und undulierenden Membran, endlich die Abrundung des Parasiten (Taf. 13, Fig. 23 a — 23 b). Hierauf folgt eine rasche Vermehrung, sodass nach 20 Stunden in der Kultur neue Organismen erscheinen, welche aus der Teilung der eingesäten Flagellaten enstehen und eine runde und eiförmige Gestalt besitzen (Taf. 12, Fig. 98 — 103 und Taf. 13, Fig. 23).

Anfangs herrschen kleine, birnförmige, geissellose Organismen (Taf. 12, Fig. 99—102) vor, welche bei der Färbung nach ROSENBUSCH dieselbe Struktur zeigen, wie die entsprechenden Formen aus dem *Conorhinus*. In GIEMSA-Präparaten sieht man in diesen

mais metodicas pesquizas, pelo que deixamos de aprezentar agóra os dezenhos e os dados sobre a estrutura dellas.

Transmissão da infeção pela picada do Conorhinus e por injeção dos flajelados do tubo dijestivo e das culturas. Virulencia variavel do parazito. Evolução da infeção nos animais de laboratorio.

Conforme referimos, o primeiro cazo de infeção pelo *Schizotrypanum cruzi* foi obtido num *Callithrix* picado por alguns conorrinos trazidos da zona contaminada. Os insétos estavam, havia mais de 8 dias, sem refeição em qualquer vertebrado, o que indica, já neste primeiro cazo, a auzencia de transmissão mecanica do parazito. Maiores ensinamentos, porém, oferecem as experiencias seguintes, realizadas com larvas, nacidas no laboratorio, como passamos a referir:

Quatro larvas, no 5.º dia apoz a eclosão, picaram um *Callithrix* infetado desde 1 mez, com flajelados não muito abundantes no sangue periferico.

Duas destas larvas, 10 dias depois, picaram uma cobaia que morreu no 6.º dia aprezentando no pulmão grande numero de fórmas de esquizogonia e no sangue periferico alguns parazitos intraglobulares. As 2 larvas restantes infetaram mais 2 cobaias, uma das larvas no 20.º e a outra no 25.º de infeção. Uma dessas cobaias morreu no 7.º dia apoz a picada, com grande numero de fórmas de esquizogonia no pulmão, sem flajelados, apreciaveis em exame rapido, no sangue periferico; a outra cobaia morreu no 12.º dia, aprezentando algumas fórmas de esquizogonia no pulmão e raros flajelados no sangue periferico.

Nova experiencia, com 6 larvas, 3 dellas alimentadas em *Callithrix* com infeção antiga e 3 alimentadas em cobaia com numerozos parazitos no sangue periferico, deu o seguinte rezultado: as 3 larvas, infetadas no *Callithrix*, picaram no 8.º dia uma cobaia, que mostrou parazitos no sangue periferico 15 dias depois; as larvas alimentadas na co-

Formen den Hauptkern als grosse Chromatinmasse, welche an einem beliebigen Punkte der Peripherie den Blepharoplasten aufweist.

Auch die runden Formen von wechselnden Dimensionen zeigen nur die bei Insekten beschriebenen Strukturverhältnisse. In GIEMSA-Präparaten sieht man im Plasma ausser den Volutinkörperchen nicht selten zahlreiche Vakuolen.

Runde und birnförmige Formen zeigen sich in Anhäufungen, die oft von sehr zahlreichen Individuen gebildet sind, unter welchen viele Kernteilungen aufweisen, andere mehrfache Blepharoplasten und Kerne enthalten und wieder andere durch Plasmafäden gegenseitig verbunden sind.

Diese Organismen bilden dann eine Geissel und gehen in die erwachsene Crithidienform über, bei welcher, wie bei den vorigen, die Zellstruktur den entsprechenden Formen aus der Wanze entspricht, weshalb ich sie auch nicht beschreibe. Ich untersuche auch bei diesen den Kernteilungsprozess und werde darüber später berichten. In älteren Kulturen beobachtet man häufig abweichende Crithidienformen von grossen Dimensionen und in mehrfacher Teilung begriffen (Taf. 12, Fig. 108 u. 109). Kugel- und Birnformen bleiben neben den erwachsenen Crithidien in den Kulturen lange Zeit — bis zu 2 Monaten — am Leben und die beiden ersten Ueberimpfungen gehen fast immer gut an.

Das *Schizotrypanum cruzi* verhält sich demgemäss in den Kulturen ganz wie im Darme der Wanze, sodass fast alle Entwicklungsphasen vollständig übereinstimmen. Doch fand ich in den künstlichen Kulturen weder die runden, von einer verdichteten Membran umgebenen Organismen, noch die im Darmkanal nachgewiesenen Schizogonieformen. Dagegen zeigten 2 Kulturen aus dem Blute des Pinseläffchens nach 10 Tagen parasitäre Formen, welche ich noch nicht beobachtet hatte. Hier sah ich Flagellaten mit hinter dem Hauptkerne liegenden Blepharoplasten, wobei der letztere das Chromatin zu einem langem Streifen angeordnet zeigte. Dieses Bild gleicht demjenigen des erwachsenen Parasiten aus dem peripheren Blute und den Speicheldrüsen.

baia picaram sem rezultado novas cobaias no 8.º, no 14.º e no 20.º dias.

Grande numero de outras experiencias, com larvas nutridas em cobaias intensamente infetadas, foram negativas, não obstante aprezentarem todas as larvas, com absoluta constancia, as fórmas de critidias que referimos no intestino médio. Tambem o exame do liquido da cavidade geral e as pesquizas das glandulas salivares destas larvas deram rezultados negativos. Nas larvas cujas picadas foram contaminantes para cobaias não fizemos, devido ao intuito de apreciar o prazo maximo da condição infetante, pesquizas complementares nas glandulas salivares, perdendo as larvas sem ter tido esclarecimento importante que tais pesquizas poderiam trazer.

Temos diversas experiencias de infeção de cobaias por picada de conorrinos adultos; nestas, porém, devido á possibilidade de serem infetantes os insétos colhidos na zona contaminada, não se póde apreciar o tempo de evolução completa do parazito. Da relação centezimal de conorrinos infetantes, quando colhidos em habitações humanas, não temos por emquanto idéa exata; é certo, porém, que naquella relação influe especialmente a procedencia dos insétos. Tivemos coleções de conorrinos, da mesma procedencia, nas quais existiam muitos insétos infetantes; quando com outras coleções, de procedencia diversa, as tentativas de infeção foram todas negativas.

Podemos, das experiencias até agora realizadas, tirar as concluzões seguintes sobre a transmissão do *Schizotrypanum cruzi* pela picada do *Conorhinus:*

1.º Certa proporção, indeterminada, de conorrinos colhidos nas habitações de zona contaminada, é infetante para os vertebrados.
2.º As larvas creadas no laboratorio e alimentadas em animais contaminados, mesmo com numerozos parazitos no sangue periferico, nem sempre se tornam infetantes, apezar de aprezentarem flajelados no intestino médio.
3.º As larvas que, em tal cazo, se tornam contaminantes, só o são, desde o 8.º ou 10.º

Eine zweite Form wurde gleichfalls zwei mal in den Kulturen beobachtet; sie ist oval und zeigt einen einzelnen Kern, dessen Chromatin in 2 Lappen angeordnet ist. Die Form derselben erinnert in trocken fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten sehr an den Ookineten des *Hämoproteus.* Da sich jedoch diese letzten Formen nicht sehr deutlich erscheinen, sind noch mehr eingehende und methodische Untersuchungen nötig, weshalb ich jetzt keine Zeichnungen und nähere Angaben über ihre Struktur gebe.

Uebertragung der Infektion durch den Stich des Conorhinus, die Flagellaten aus dem Darmkanal und die Kulturformen.

Wie schon berichtet, wurde die erste Infektion durch *Schizotrypanum cruzi* bei einem Pinseläffchen beobachtet, an welchem aus infizierter Zone stammendende Conorhinen gesogen hatten. Dieselben hatten seit mehr als 8 Tagen kein Blut aufgenommen, was bereits in diesem ersten Falle die mechanische Uebertragung des Parasiten ausschloss. Genauere Aufschlüsse erhielt ich aus den folgenden Versuchen mit Larven, die im Laboratorium ausgeschlüpft waren:

Fünf Tage nach dem Ausschlüpfen sogen 4 Larven an einer seit einem Monate infizierten *Callithrix* mit sehr zahlreichen Flagellaten im peripheren Blute. 10 Tage darauf stachen 2 dieser Larven ein Meerschweinchen; dasselbe starb am 6. Tage und zeigte in den Lungen zahlreiche Schizogonieformen und im peripherischen Blute einige intraglobuläre Parasiten. Die 2 übrigen Larven infizierten 2 Meerschweinchen, eine derselben am 20., die andere am 25. Tage nach der Infektion. Das eine Meerschweinchen starb 7 Tage nach den Stichen mit zahlreichen Schizogonieformen in den Lungen, während im peripherischen Blute eine nicht sehr eingehende Untersuchung keine Flagellaten nachwies; das andere Versuchstier starb am 12. Tage und zeigte in den Lungen einige Schizogonieformen nebst spärlichen Flagellaten im peripheren Blute.

Ein neuer Versuch wurde mit 6 Larven angestellt; davon hatten 3 an einer seit lan-

dia apoz a refeição de sangue infetado, conservando essa condição por espaço de tempo longo e ainda indeterminado.

4.º As picadas de larvas, 2 ou 3 dias depois de uma refeição em animal infetado, não contaminam os vertebrados.

Claro está que estas concluzões, embora bazeadas em experiencias izentas de qualquer cauza de erro, não trazem ao assunto esclarecimento completo, sendo necessario aguardar o rezultado das novas pesquizas a que procedemos atualmente.

Obtivémos, inoculando material do intestino médio de conorrinos adultos, colhidos em habitações humanas e sem prévia refeição contaminada no laboratorio, a infeção de diversas cobaias, as quais chegaram a aprezentar, no sangue periferico, numerozos flajelados.

Com o material do intestino médio de larvas, infetadas no laboratorio, conseguimos tambem a infeção de diversas cobaias. Fizemos inoculações, neste cazo, depois de 6 dias da refeição contaminante, não tendo ainda experimentado antes daquelle prazo, o que devemos fazer ainda. Nas inoculações do material do intestino de larvas e de conorrinos adultos, tivemos alguns rezultados negativos, sem que possamos por emquanto explicar a causa delles. Aliaz, ainda neste ponto, para maior segurança das concluzões, devemos voltar á novas pesquizas.

A inoculação de cultura não oferece concluzão diversa da inoculação do material do intestino médio; muitas vezes infetámos cobaias com inoculações de culturas, falhando porém, algumas das experiencias realizadas.

Variabilidade na virulencia do Schizotrypanum cruzi.

A virulencia do *Schizotrypanum cruzi* é influenciada por diversos fatores, cuja natureza e cujos efeitos não conhecemos ainda, de modo exato.

Passajens sucessivas do parazito, atravez de animais sensiveis atenuam, sem duvida, a virulencia delle; por outro lado, o parazito,

gem infizierten *Callithrix*, die anderen 3 an einem Meerschweinchen mit zahlreichen Parasiten im peripheren Blute gesogen. Das Resultat des Versuches war folgendes: die 3 am Affen infizierten Larven stachen am 8. Tage ein Meerschweinchen, welches 15 Tage später Parasiten im peripheren Blute zeigte; die Larven vom Meerschweinchen stachen am 8., 14. und 20. Tage andere Meerschweinchen mit negativem Resultate.

Noch viele andere Versuche mit Larven, die an stark infizierten Meerschweinchen gesogen hatten, blieben resultatlos, obwohl die Larven mit absoluter Sicherheit die erwähnten Crithidienformen im Mitteldarme aufwiesen. Ebenso blieben die Untersuchungen der Flüssigkeit aus der Leibeshöhle und die der Speicheldrüsen ohne Resultat. Dagegen machte ich keine Kontrollversuche an den Speicheldrüsen der Larven, deren Stich Meerschweinchen infiziert hatte, da ich dieselben zur Feststellung der längsten Dauer der Infektion gebrauchte; so verlor ich die Larven, ohne die wichtige Aufklärung zu erhalten, welche diese Versuche hätten geben können.

Ich machte auch verschiedene Infektionsversuche am Meerschweinchen, die ich von erwachsenen Conorhinen stechen lies; doch liess sich bei solchen die Entwicklungsdauer des Parasiten nicht feststellen, weil diese in infizierter Zone gesammelten Insekten schon infektiös sein konnten. Ueber den Prozentsatz der Infektiosität der in menschlichen Wohnungen gefangenen Conorhinen habe ich keinen richtigen Begriff, doch steht soviel fest, dass derselbe besonders von der Herkunft der Tiere abhängt. So fanden wir in einer Sendung von Conorhinen von einem Orte zahlreiche infektiöse Exemplare, während bei Sendungen von anderer Herkunft alle Infektionsversuche resultatlos blieben.

Aus den bisher angestellten Untersuchungen über die Uebertragung des *Schizotrypanum cruzi* durch den Stich des *Conorhinus* kann ich folgende Schlüsse ziehen:

1. Ein unbestimmter Prozentsatz von aus Wohnungen der infizierten Zone stammenden Conorhinen ist für Wirbeltiere Infektiös.

atenuado, readquire a virulencia inicial, quando inoculado em outra especie animal. As infeções produzidas nas cobaias por picadas de conorrinos são, de regra, mais graves que as produzidas por inoculações de sangue contaminado. As primeiras matam o animal em espaço de tempo variavel, comumente de 5 a 10 dias, ao passo que as ultimas permitem a sobre-vida até de 2 mezes. E' frequente, nas infeções pelo *Conorhinus*, as cobaias morrerem ainda com auzencia de flajelados no sangue periferico, aprezentando no pulmão grande numero de fórmas esquizogonicas.

As reinoculações de sangue de cobaias, inicialmente infetadas pelo inséto, modificam consideravelmente, tanto a ação patojenica, quanto a atividade de multiplicação do parazito, de modo que, apoz certo numero de reinoculações, as infeções obtidas tornam-se menos intensas e a morte das cobaias mais demorada. Si, porém, inoculamos o parazito assim tratado num *Callithrix*, parece que elle readquire, em parte, a virulencia perdida.

Influe, ainda na intensidade da parazitoze, a via de introdução do flajelado, parecendo, de nossas experiencias, serem as inoculações intra-peritoneais as que produzem infeções maiores e mais rapidamente mortais.

Sobre este ponto merecem referencia especial nossas observações sobre o tripanozómida de proveniencia humana: Inoculámos, como dissémos, 2 cobaias e um *Callithrix*, com sangue da primeira doente, morrendo aquellas duas em poucos dias e sobrevivendo o *Callithrix* 2 mezes, vindo a morrer em estado de grande emagrecimento e de consideravel hipoglobulia. Inoculámos, com o sangue do *Callithrix*, 6 cobaias que mostraram, apoz 15 dias, parazitos no sangue periferico, morrendo todas dentro de 1 mez. Com sangue destas cobaias inoculámos novas, que só muito tarde, 20 ou 30 dias depois, aprezentaram parazitos na periferia. Estas cobaias viveram mais de dois mezes, morrendo em varios periodos, quazi todas mostrando, na ocazião da morte, fórmas esquizogonicas no pulmão. Houve, portanto, nesta série de experiencias uma primeira atenuação de virulencia pela passajem no *Callithrix*, visto como

— 198 —

2. Im Laboratorium aufgezogene, an infizierten Tieren mit zahlreichen Parasiten im peripheren Blute gefütterte, Conorhinuslarven zeigen sich nicht immer infektiös, obwohl sie Flagellaten im Mitteldarme beherbergen.
3. Die Larven, welche unter solchen Verhältnissen sich infektiös erweisen, tun es erst am 8. bis 10. Tage nach der Aufnahme des infizierten Blutes, behalten aber diese Eigenschaft während eines langen Zeitraumes, dessen Grenzen noch nicht bestimmt sind.
4. 2 bis 3 Tage nach Aufnahme des infizierten Blutes sind die Stiche der Larven nicht infektiös für Wirbeltiere.

Obwohl die Schlüsse auf von Fehlerquellen reinen Versuchen beruhen, können sie doch natürlicherweise die Frage nicht vollständig aufklären; deswegen muss das Resultat neuer Versuche, mit denen wir zur Zeit beschäftigt sind, abgewartet werden.

Durch Einspritzung des Mitteldarminhaltes erwachsener, aus menschlichen Wohnungen stammender Conorhinen, die im Laboratorium kein infiziertes Blut aufgenommen hatten, erhielt ich eine Infektion bei verschiedenen Meerschweinchen, welche später im Blute zahlreiche Flagellaten aufwiesen. Auch mit Material aus dem Mitteldarm von — im Laboratorium infizierten — Larven, bewirkte ich eine Infektion bei verschiedenen Meerschweinchen. Dabei stammte das Infektionsmaterial aus der Zeit nach dem 6. Tage der Infektion; Versuche vor dieser Zeit wurden nicht angestellt, sollen aber noch gemacht werden. Bei der Uebertragung von Material aus dem Darme von Larven und erwachsenen Exemplaren dieser Wanzen erhielten wir einige negative Resultate, ohne zur Zeit die Ursache derselben erklären zu können. Uebrigens werden wir auch hierüber zu grösserer Sicherheit in unseren Schlüssen weitere Untersuchungen anstellen.

Die Uebertragung von Kulturen gestattet keine anderen Schlüsse, als die Einspritzung von Material aus dem Mitteldarme; manchmal infizierte ich Meerschweinchen mit Einsprit-

o parazito humano, que a principio matou cobaias em 5 dias, só o fez depois em 1 mez ou pouco menos. Segunda e mais intensa atenuação sofreu o virus no organismo das cobaias, conforme o rezultado das reinoculações, que só mataram os animais depois do 2.º mez.

A grande virulencia do parazito humano para as cobaias revelou-se outra vez na inoculação de sangue do doente JOSE, em dois destes animais, que morreram dentro de poucos dias e na terceira experiencia, na qual obtivémos a infeção de uma cobaia (que permaneceu viva mais de um mez) a quantidade de sangue inoculado foi de menos de ½ cc., quando nos 2 primeiros cazos injetámos no peritoneo das cobaias, de 1 a 2 ccm.

Convém assinalar aqui a intensidade diversa da infeção dos doentes, o que impossibilita tirar destes rezultados, a respeito da virulencia do parazito, concluzões definitivas. De fato no primeiro doente havia flajelados no sangue periferico, apreciaveis mesmo em exame rapido, ao passo que nos outros só a inoculação de animais sensiveis póde revelar a existencia da infeção.

Evolução da molestia na cobaia e no Callithrix.

A evolução da esquizotripanozomiase nos animais de experiencia depende, sobretudo, da proveniencia do parazito. Póde ser estabelecida como regra, a morte rapida dos animais, ás vezes com flajelados raros ou sem elles no sangue periferico, quando infetados pelo *Conorhinus*. Nas inoculações sucessivas, porém, na mesma especie animal, a sobrevida póde ser longa, atinjindo 2 mezes e mais na cobaia e no *Callithrix*. Ha, nestes cazos, periodos de maior abundancia de parazitos no sangue periferico. Em alguns animais observámos dezaparecimento rapido dos flajelados da periferia, lembrando as crizes verificadas em algumas espiroquetozes. Outra observação, muitas vezes repetidas, é a da morte dos animais em periodo de ativa esquizogonia do parazito. As cobaias aprezentam, nestas condições, os capilares do pul-

zung von Kulturen, während wieder andere Versuche resultatlos blieben.

Schwankungen in der Virulenz von Schizotrypanum cruzi.

Die Virulenz von *Schizotrypanum cruzi* steht unter dem Einflusse verschiedener Faktoren, deren Natur und Wirkungen noch nicht genau bekannt sind. Wiederholte Passagen durch empfindliche Tiere schwächen die Virulenz in deutlicher Weise ab; andererseits nimmt der Parasit nach der Abschwächung die ursprüngliche Virulenz wieder an, wenn er auf eine andere Tierart übertragen wird. Die Infektionen, welche bei Meerschweinchen durch die Stiche von Conorhinen erzeugt werden, sind in der Regel schwerer, als diejenigen, die durch Einführung infektiösen Blutes entstehen. Erstere töten die Tiere nach einem wechselnden Zeitraum von gewöhnlich 5 bis 10 Tagen, während letztere ein Ueberleben bis zu 2 Monaten gestatten. Bei Infektion durch Conorhinen sterben die Meerschweinchen nicht selten schon, wenn noch keine Flagellaten im peripheren Blute vorkommen, während in den Lungen zahlreiche Schizogonieformen zu finden sind.

Die Ueberimpfung des Blutes von ursprünglich durch den Stich von Conorhinen infizierten Meerschweinchen bewirkt eine beträchtliche Aenderung in Beziehung auf die Vermehrungsenergie der Parasiten, so dass nach einer gewissen Zahl von Passagen die erzeugten Infektionen weniger intensiv werden und der Tod der Meerschweinchen sich verzögert. Uebertragen wir jedoch den so behandelten Parasiten auf eine *Callithrix*, so scheint er die verlorene Virulenz teilweise wieder zu gewinnen.

Auch der Ort der Einimpfung beeinflusst die Intensität des parasitären Prozesses; nach meinen Experimenten scheinen intraperitoniale Einspritzungen die stärksten und am schnellsten tödtlichen Infektionen hervorzurufen.

Hier verdienen die Versuche mit Trypanosomen menschlicher Herkunft besonders Erwähnung; wie berichtet, infizierte ich mit

mão repletos de fórmas esquizogonicas, coincidindo o fato com diminuição e ás vezes dezaparecimento dos flajelados do sangue periferico.

Entre os sintomas que se observam nos animais de experiencia, além de elevação termica, grande emagrecimento e hipoglobulia, devemos referir o enfartamento ganglionar generalizado, em alguns cazos muito consideravel, e afeções oculares. Esta é muito frequente no *Callithrix* e não raro determina a perda completa da vizão. Finalmente, registrámos a observação frequente da morte dos animais em convulsão.

Considerações gerais.

I. Sistematica.

A existencia de relações filojeneticas, muito estreitas, entre os tripanozomos e os parazitos hematicos intra-globulares, foi primeiro revelada, em 1904, pelas memoraveis pesquizas de SCHAUDINN sobre o ciclo evolutivo do *Haemoproteus noctuae* e do *Leucocytozoon ziemanni*. Nellas o grande pesquizador demonstrou, no organismo do vertebrado, para o *Haemoproteus*, a alternancia de fazes de repouzo intraglobulares, aflajeladas, com a de flajelados livres no plasma. No *Culex pipiens*, de uma fecundação oogamica entre elementos sexuados tipicamente halteridicos, rezultaria um ooquineto, cuja evolução conduziria a parazitos flajelados. No *Leucozytozoon ziemanni* o ooquineto daria logar, por divizão multipla, á formação de organismos espiroquetiformes, com morfolojia de todo ponto identica á dos tripanozomos tipicos.

Inumeras vezes contestadas, sem que, entretanto, a auzencia de verdade nella tenha sido até agóra demonstrada, de modo seguro, as observações de SCHAUDINN patentearam o estreito parentesco entre os tripanozomos e o grupo de protozoarios hematicos, até então autonomo e que parecia bem delimitado, dos denominados hemosporidios.

O fundo de verdade daquellas observações veiu, bem depressa, revelar-se em outras pesquizas, nas quais protozoarios intracelu-

dem Blute der ersten Patienten zwei Meerschweinchen und eine *Callithrix*, wobei erstere nach wenigen Tagen starben, während der Affe noch zwei Monate lebte und im Zustande grosser Abmagerung und bedeutender Hypoglobulie zu Grunde ging. Mit dem Blute der *Callithrix* impfte ich sechs Meerschweinchen, welche nach 15 Tagen im peripheren Blute Parasiten aufwiesen und innerhalb eines Monates starben. Mit dem Blute dieser Meerschweinchen impfte ich andere, welche die Parasiten erst viel später — 20 bis 30 Tage nachher — im peripheren Blute zeigten. Sie lebten mehr als zwei Monate und starben nach verschiedener Zeit, wobei fast alle Schizogonieformen in den Lungen aufwiesen. Bei dieser Versuchsreihe beobachtete man also eine primäre Virulenzverminderung nach der Passage durch die *Callithrix*, indem der vom Menschen stammende Parasit, der ursprünglich Meerschweinchen in 5 Tage tötete, dies nun erst nach einem Monate oder nur wenig früher tat. Eine zweite, noch intensivere Abschwächung erlitt das Virus im Organismus der Meerschweinchen, wie der Erfolg der Weiterimpfungen zeigt, welche den Tod der Tiere erst nach mehr wie 2 Monaten zur Folge hatten.

Die grosse Virulenz des menschlichen Parasiten für Meerschweinchen zeigte sich wieder bei der Uebertragung des Blutes von dem Patienten JOSE auf zwei dieser Tiere, welche nach wenigen Tagen starben. Bei einem dritten Versuche, in welchem ein Meerschweinchen infiziert wurde und mehr wie einen Monat am Leben blieb, war die Menge des übertragenen Blutes weniger als $^1/_2$ cc, während ich von den beiden ersten Kranken je 1 bis 2 cc. in die Bauchhöhle der Meerschweinchen einspritzte.

Es muss hier die verschiedene Intensität der Infektion bei den einzelnen Patienten betont werden, welche es unmöglich macht, aus diesen Resultaten endgültige Schlüsse auf die Virulenz der Parasiten zu ziehen. So waren bei den ersten Patienten schon bei flüchtiger Untersuchung Parasiten im peripheren Blute nachzuweisen, während bei den anderen die Infektion nur durch Einimpfung empfindlicher Tiere nachgewiesen werden konnte.

lares aflajelados mostraram, nas culturas artificiais, fórmas flajeladas com aspeto morfolojico das critidias. Assim MYAJIMA obteve, nas culturas de piroplasma, fórmas de flajelados que o pesquizador supõe serem fazes evolutivas daquelle parazito. O mesmo rezulta das pesquizas de ROGERS e CH. NICOLLE, com a *Leishmania*, que daria, nas culturas, fórmas flajeladas bem carateristicas.

Por outro lado, os metodos modernos de citolojia dos protozoarios vieram ainda, *maxime* nos trabalhos de HARTMANN e PROWAZEK, revelar um outro carater comum aos dois grupos de parazitos, hemosporidios e tripanozómidas. Referimo-nos a dualidade nuclear, bem nitida nos generos *Trypanosoma*, *Crithidia* e *Herpetomonas*, sendo aí o segundo nucleo, o locomotor, reprezentado pelo blefaroplasto.

Nos hemosporidios, algumas vezes, aspeto morfolojico analogo ao dos tripanozomos é encontrado numa faze qualquer do ciclo evolutivo, confórme verificaram SCHAUDINN, nos merozoitos e esporozoitos da malaria, e HARTMANN, naquelles e no microgámeta do proteozoma.

Quando assim não é, na auzencia de qualquer aparelho flajelar, não raro é possivel verificar a dualidade de nucleos, mesmo em fórmas de repouzo intraglobulares. E' o que acontece nas hemogregarineas (V. PROWAZEK) no esporozoito da malaria (ED. e ET. SERGENT), na *Lankesterella ranarum* (FRANÇA, BILLET e BRUMPT) no *Halteridium* (HARTMANN e WOODCOCK), no *Piroplasma bigeminum* etc. Ainda assim a autonomia e a delimitação dos hemosporidios, delles com os flajelados incluidos na antiga familia de tripanozomidas, parecia ter baze solida em condições biolojicas carateristicas, como fossem a multiplicação por meio de fórmas esquizogonicas regulares e a constancia do parazitismo intra-celular. Estas duas condições, aliaz, acham-se ligadas por uma relação de dependencia, sendo a multiplicação esquizogonica, provavelmente, consequencia do parazitismo intra-celular (HARTMANN). Nem faltam aqui, no processo de multiplicação, fórmas de aproximação entre os tripanozó-

Verlauf der Krankheit bei Meerschweinchen und Callithrix.

Der Verlauf der Infektion mit *Schizotrypanum cruzi* bei Versuchstieren hängt besonders von der Herkunft des Parasiten ab. Als Regel gilt der rasche Tod der Tiere — nicht selten mit wenigen oder ganz fehlenden Parasiten im peripherischen Blute — bei der Infektion durch Conorhinen. Bei derselben Tierart kann jedoch bei späteren Uebertragungen das Leben länger erhalten bleiben und zwar bis zu 2 Monaten und länger bei Meerschweinchen und *Callithrix*. In solchen Fällen gibt es Perioden, in welchen die Parasiten im peripheren Blute zahlreicher erscheinen. Bei einigen Tieren beobachtete ich rasches Verschwinden der Parasiten von der Peripherie, was an die Krisen erinnert, welche bei Spirochätosen beobachtet werden. Eine andere, häufig wiederholte, Beobachtung betrifft den Tod der Tiere in einer Periode aktiver Schizogonie des Parasiten. Die Meerschweinchen zeigen in diesem Falle die Lungenkapillaren voll von Schizogonieformen, während gleichzeitig die Flagellaten im peripheren Blute abnehmen oder ganz fehlen.

Von Krankheitssymptomen, welche bei Versuchstieren beobachtet werden, müssen — neben Temperatursteigerungen, starker Abmagerung und Hypoglobulie — allgemeine, manchmal sehr beträchtliche Lymphdrüsenanschwellungen und Augenaffektionen, besonders Keratitis hervorgehoben werden. Letztere ist bei der *Callithrix* besonders häufig und bedingt nicht selten vollständigen Verlust des Sehvermögens. Endlich erwähne ich den häufig beobachteten Tod des Tieres unter Konvulsionen.

Allgemeine Betrachtungen.

1. KLASSIFIKATION.

Das Bestehen engerer phylogenetischer Beziehungen zwischen den Trypanosomen und den intraglobulären Blutparasiten wurde zuerst 1904 durch die denkwürdigen Forschungen aufgedeckt, welche SCHAUDINN über den Entwicklungszyklus des *Haemoproteus noctuae* und *Leukocytozoon Ziemanni* machte. In diesen

midas e os hemosporidios. Assim temos como aperfeiçoamento á cizão binaria do *Trypanosoma brucei* e de outras especies, a cizão multipla do *Trypanosoma lewisi*, nos orgãos internos com aspeto de rozaceas, cujas unidades são em numero variavel; e tambem no *Trypanosoma rotatorium*, no sangue periferico, a divizão em 4 ou mais unidades, realizada em organismos arredondados (observação inedita no Instituto de Manguinhos).

Nos hemosporidios, a auzencia de aparelho flajelar, que muitas vezes tem reprezentação parcial no blefaroplasto, significa na opinião de HARTMANN, um fenomeno de redução, dependente da vida intracelular do parazito. Nesse ponto o *Haemoproteus*, pela alternancia de fazes intraglobulares com blefaroplasto e auzencia de flajelo e de fórmas flajeladas no plasma, reprezenta tranzição, bem carateristica, entre os tripanozomos e os hemosporidios.

Estes fatos e outros que não referimos, interpretados em demoradas considerações (*Archiv. für Protistenkunde*, 1908) levaram HARTMANN a modificar a classificação de protozoarios, introduzindo na sub-classe de flejelados a nova ordem de *Binucleata*. Nesta ficam incluidos em diversas familias, os parazitos hematicos que anteriormente formaram o grande grupo dos hemosporidios e os flajelados que, antigamente, formavam a familia dos tripanozomos.

O parazito que estudamos vem trazer a essa modificação da sistematica apoio inabalavel, visto reprezentar, entre os tripanozomos tipicos e os protozoarios incluidos no genero *Plasmodium*, fórma intermediaria bem caraterizada. Nelle, realmente existem condições biolojicas, alternantes nas diversas fazes do ciclo, pertencentes aos 2 grupos de parazitos. Ao em vez da cizão binaria, encontrada na maioria de tripanozomos ou da divizão multipla irregular do *Trypanosoma lewisi* temos aqui multiplicação por esquizogonia tipica e constante, sempre constituida do mesmo numero de individuos. Este processo mais aperfeiçoado de multiplicação se relaciona com a faze intracelular do parazito.

zeigte der hervorragende Forscher für *Haemoproteus*, dass im Organismus der Wirbeltiere ein Wechsel von intraglobulären, geissellosen Ruheformen mit frei im Plasma lebenden Flagellaten besteht. Aus einer oogamen Befruchtung von Geschlechtselementen mit typischen Halteridienformen entsteht im *Culex pipiens* ein Ookinet, dessen weitere Entwicklung zu geisseltragenden Parasiten führt. Bei *Leucocytozoon Ziemanni* erzeugte der Ookinet durch multiple Teilung Organismen von Spirochätenform mit einer derjenigen von typischen Trypanosomen vollständig gleichen Morphologie.

Sehr häufig bestritten, ohne dass ihre Unrichtigkeit bisher bestimmt erwiesen wäre, zeigten die Beobachtungen von SCHAUDINN die enge Verwandschaft zwischen den Trypanosomen und der Gruppe von Protozoen des Blutes, die bisher als, scheinbar gut umschriebene, selbständige Gruppe unter den Namen *Haemosporidien* vereinigt wurden.

Das tatsächlich Richtige in diesen Beobachtungen wurde bald durch andere Forschungen erwiesen, nach welchen intracelluläre, geissellose Protozoen in künstlichen Kulturen geisseltragende Entwicklungsstadien von *Leptomonas*-Form zeigten. So erhielt MIAJIMA in Kulturen von Piroplasmen Flagellatenformen, welche dieser Forscher für Entwicklungsstadien des Parasiten hielt. Ebenso ergibt sich aus den Untersuchungen von ROGERS, LEISHMAN und Ch. NICOLLE über *Leishmania* das Auftreten von gut charakterisierten geisseltragenden Formen.

Auf anderer Seite erwiesen die neuen cytologischen Methoden, besonders in den Arbeiten von HARTMANN und V. PROWAZEK, ein neues Charakteristikum, welches beiden Parasitengruppen, den *Haemosporidien* und *Trypanosomiden* gemein ist.

Es ist dies die Zweizahl der Kerne, welche deutlich bei den Gattungen *Trypanosoma*, *Crithidia*, *Leptomonas* und *Herpetomonas* hervortritt, bei welchen der zweite lokomotorische Kern durch den Blepharoplasten vertreten ist.

Bei den Haemosporidien finden sich manchmal denjenigen von Trypanosomen analoge Bildungen in irgend einer Phase des Entwicklungskreises, wie SCHAUDINN bei dem Mero-

Na evolução no sangue aprezenta o parazito uma primeira faze intraglobular, na qual os organismos iniciais, aflajelados, que, óra, mostram nucleo unico, achando-se nestes o blefaroplasto incorporado ao nucleo principal, óra são vistos já com dualismo nuclear. A' faze intraglobular, na qual tem logar, de regra, a formação do aparelho flajelar completo, segue-se outra de flajelados livres no plasma, na qual a morfolojia do parazito é inteiramente semelhante á dos tripanozomos. Em rezumo: processo de multiplicação por esquizogonia e parazitismo intracelular, de um lado, do outro, vida livre no plasma, com organização estrutural analoga á de qualquer especie do genero tripanozomo, constituem dois aspetos biolojicos, reunidos no mesmo parazito, que caraterizam grupos de protozoarios distanciados nas classificações anteriores — hemosporidios e tripanozomos, reunidos agóra na mesma ordem dos *Binucleata*, pela sistematica de HARTMANN.

Julgámos ainda que o processo de multiplicação por esquizogonia, com auzencia de divizão lonjitudinal binaria, aliado á faze intraglobular, deve determinar a creação de um novo genero, na familia *Trypanosomidae*, porquanto nenhum tripanozomo conhecido aprezenta, reunidos, aquellas condições biolojicas. Além de que, as grandes dimensões do blefaroplasto deste flajelado, constituem carateristica morfolojia que bem o distancia das especies conhecidas.

MESNIL e BRIMONT, para um parazito intraglobular do *Cholopus didactylus*, crearam o genero *Endotrypanum*, em virtude do aspeto morfolojico, proximo do dos tripanozomos e da vida intracelular. Não surpreenderam qualquer fórma livre do parazito e nem conhecem ontra faze de evolução. Não seria aceitavel, só pela condição de vida intraglobular comum, colocar nosso flajelado nesse genero, porquanto delle conhecemos carateristicas biolojicas que mais autorizam a creação de genero novo. E só na hipoteze de ser verificado, para o parazito de MESNIL, uma faze flajelada livre no plasma e a multiplicação esquizogonica, deverá o genero *En-*

und Sporozoiten der Malaria und HARTMANN bei denselben und den Microgameten von *Proteosoma* feststellte. Selbst beim Fehlen jedes Geisselapparates lassen sich, nicht selten sogar bei intraglobulären Ruhezuständen, doppelte Kerne erkennen. Dies geschieht bei den Haemogregarinen (V. PROWAZEK), bei den Sporozoiten der Malaria (ED. und ET. SERGENT), bei *Lankesterella ranarum* (FRANÇA, BILLET und BRUMPT), bei *Halteridium* (BERLINER und WOODCOCK), bei *Piroplasma bigeminum* (BREINL) u. s. w. Trotzdem schien die Autonomie der Haemosporidien und ihre Abgrenzung von den zur früheren Familie der Trypanosomen gehörigen Flagellaten in biologischen Ckarakteren festbegründet; es sind dies die Vermehrung durch regelmässige Schizogonie und der beständige intracelluläre Parasitismus. Diese Charaktere stehen übrigens nach HARTMANN in einem Abhängigkeitsverhältniss, indem die Vermehrung durch Schizogonie wahrscheinlich eine Folge des Zellparasitismus ist. Es finden sich aber auch bei dieser Vermehrungsweise Annäherungen zwischen Trypanosomiden und Haemosporidien. So haben wir als eine Weiterführung der Zweiteilung des *Trypanosoma brucei* und anderer Arten die multiple Teilung des *Trypanosoma lewisi* in den inneren Organen, in Form von Rosetten, deren Individuenzahl wechselt, ebenso bei *Trypanosoma rotatorium* im peripherischen Blute einen Zerfall in vier oder mehr Individuen nach Abrundung des Organismus (unveröffentlichte Beobachtung aus dem Institute von *Manguinhos*).

Bei den Haemosporidien bedeutet die Abwesenheit eines Geisselapparates, der häufig durch den Blepharoplasten teilweise repräsentiert wird, nach der Ansicht von HARTMANN ein Reduktionsphänomen als Folge der intracellulären Lebensweise der Parasiten. In dieser Hinsicht bildet *Haemoproteus* durch den Wechsel intraglobulärer Phasen (mit Blepharoplast, aber ohne Geissel) und geisseltragender Plasmaformen einen ausgesprochenen Uebergang von *Trypanosomen* zu *Haemosporidien*.

Diese und andere, hier nicht aufgeführte Tatsachen, welche er im Archiv für Protisten-

dotrypanum ser preferido ao que adotamos para nosso parazito.

O *Endotrypanum Schaudinni* binucleado intraglobular, é, com muita lojica, considerado pelos autores como fórma intermediaria entre os tripanozomos o os hemosporidios, constituindo tambem pela morfolojia e pelo parazitismo intracelular, um poderozo argumento em favor das idéas de SCHAUDINN sobre as estreitas relações filojeneticas entre os tripanozomos e o antigo grupo de hemosporidios.

II. DIMORFISMO SEXUAL.

A existencia nos tripanozomos, de diferenciações morfolojicas, ligadas á dualidade sexual, permanece ainda, apezar de numerozas pesquizas sobre o assunto, objeto de opiniões diverjentes. Foram os trabalhos de SCHAUDINN, que dispertaram a atenção dos pesquizadores para a existencia de diferenças sexuais, no inicio do ciclo evolutivo destes flajelados no organismo do inséto transmissor. No halteridio, porém, o diferente aspeto morfolojico dos gametos, sexualmente bem caraterizados, não oferece marjem á discussão.

Nos tripanozomos, quem primeiro rejistrou a dualidade de sexos foi V. PROWAZEK no *Trypanosoma lewisi*. Aqui, no estomago do *Haematopinus spinulosus*, a morfolojia do flajelado sofre modificações notaveis, que mais acentuam o diformismo do parazito, já existente no sangue do rato, e que corresponde á dualidade de sexos. V. PROWAZEK admite 2 sexos, considerando ainda duvidoza a existencia das fórmas indiferentes. MINCHIN, em longas pesquizas sobre o *Trypanosoma gambiense*, tambem conclue pela existencia de dois aspetos morfolojicos do tripanozomo no sangue do vertebrado, verificando ainda a permanencia desse dimorfismo, na faze inicial da evolução no tubo dijestivo da *Glossina palpalis*.

Diverjentes são as concluzões de BREINL e MOORE em diversas especies de tripanozomos: *gambiense, equiperdum, lewisi*. Para esses autores, si algum fenomeno de fecundação ocorre nos tripanozomos, consistiria elle em uma ação do blefaroplasto sobre o nucleo

kunde (1908) eingehend auseinandersetzte, bewogen HARTMANN, die Klassifikation der Protozoen abzuändern, indem er in die Unterklasse der Flagellaten die neue Ordnung der *Binucleaten* einreihte. Diese umfasst in verschiedenen Familien die Blutparasiten, welche früher die grosse Gruppe der *Haemosporidien* bildeten, nebst den Flagellaten, welche früher in die Familie der *Trypanosomen* gestellt wurden.

Der hier studierte Parasit bringt für diese Modifikation der Systematik eine feste Stütze, indem er eine deutliche Uebergangsform zwischen den typischen *Trypanosomen* und dem Genus *Plasmodium* bildet. In der Tat finden sich hier in den verschiedenen Entwicklungsphasen abwechselnd biologische Zustände, welche beiden Parasitengruppen angehören. An Stelle der Zweiteilung, wie sie bei der Mehrzahl der *Trypanosomen* vorkommt und der unregelmässigen multiplen Teilung des *Trypanosoma lewisi* haben wir hier eine Vermehrung durch typische und konstante Schizogonie, bei welcher stets eine bestimmte Zahl gleichartiger Individuen gebildet wird. Diese höchste Vervollkommnung des Vermehrungsprozesses steht in Beziehung zu einer intracellulären Phase der Parasiten. Bei seiner Entwicklung im Blute zeigt derselbe zuerst eine intraglobuläre Phase von geissellosen Organismen, welche bald einen einzigen den Blepharoplast einschliessenden Kern zeigen, bald einen doppelten Kern aufweisen. Auf eine intraglobuläre Phase mit — gewöhnlich vollständigem — Geisselapparat folgt eine andere im Plasma, welche morphologisch völlig den Trypanosomen gleicht. Es bilden also auf einer Seite Vermehrung durch Schizogonie und intracellulären Parasitismus, auf der anderen freies Leben im Plasma mit einer Struktur, welche einer beliebigen Art des Genus *Trypanosoma* entspricht, bei einem und demselben Parasiten zwei biologische Erscheinungsformen, welche sonst für zwei Protozoengruppen (*Haemosporidien* und *Trypanosomen*) charakteristisch sind; diese, in früheren Klassificationen getrennt, werden jetzt durch die Einteilung von HARTMANN in derselben Ordnung der *Binucleaten* vereinigt.

principal, realizada pela imigração de parte da substancia do primeiro para o interior do segundo. Este fenomeno reprezentaria fato capital do ciclo do parazito no organismo do vertebrado.

BREINL e MOORE consideram a diversidade morfolojica dos tripanozomos no sangue como exprimindo estadios consecutivos de crecimento do flajelado, não encontrando, em qualquer das especies que estudaram, indicação alguma para a teoria do dimorfismo sexual.

Vejamos o que rezulta de nossas observações:

O dualismo morfolojico do *Schizotrypanum cruzi* aprezenta-se muito nitido em todas as fazes do ciclo, tanto no vertebrado como no inséto transmissor. São diferenças fundamentais de estrutura, especialmente acentuadas nos aspetos da cromatina do nucleo principal e do blefaroplasto, sendo inaceitavel querer fazel-as dependentes do crecimento, quando prezentes em dois organismos no mesmo estadio evolutivo. Assim é que nos merozoitos das fórmas esquizogonicas do pulmão, um dos organismos, que devemos considerar merozoito femeo mostra, desde logo, o blefaroplasto distinto do nucleo principal e neste o cariozoma muito menor que nos organismos considerados machos, nos quais, neste estadio, a substancia do blefaroplasto ainda se acha confundida com a do nucleo principal.

Nas fórmas intraglobulares e nos flajelados livres no plasma o mesmo diformismo se evidencia, espressando-se, como descrevemos, não só nas dimensões do plasma, carater secundario, mas ainda na estrutura do blefaroplasto, que num dos cazos é munido de pequeno cariozoma esferico e no outro possue cariozoma maior, ovoide quazi sempre, transversalmente colocado. Na estrutura do nucleo existe a mesma dualidade de aspeto, sendo de rejistrar a menor quantidade de substancia cromatica na fórma que consideramos femea. Os organismos jovens, cujos nucleos se aprezentam com a cromatina disposta em longa faixa lonjitudinal, bem caraterizam esse diformismo.

Ich bin, wie schon eingangs erwähnt, der Ansicht, dass die Vermehrung durch Schizogonie, bei Fehlen einer einfachen Längsteilung, in Verbindung mit der intraglobulären Entwicklungsphase die Aufstellung eines neuen Genus in der Familie *Trypanosomidae* nötig macht, da kein bekanntes *Trypanosoma* die Vereinigung dieser beiden Zustände aufweist. Ausserdem liegt in den grossen Dimensionen des Blepharoplastes dieses Flagellaten ein morphologisches Kennzeichen, welches ihn von den früher bekannten Arten trennt.

MESNIL und BRIMONT bildeten für einen intraglobulären Parasiten des *Coloepus didactylus* ein neues Genus *Endotrypanum*, auf Grund der morphologischen Aehnlichkeit mit den Trypanosomen und der intracellulären Lebensweise. Sie trafen keine freie Form des Parasiten und kennen auch keinen anderen Entwicklungszustand. Es geht vorläufig nicht an — nur wegen des gemeinsamen Kennzeichens des intraglobulären Vorkommens — unseren Flagellaten jenem Genus einzureihen, da von demselben biologische Charaktere bekannt sind, welche die Aufstellung einer neuen Gattung begründen. Nur im Falle, dass beim MESNIL'schen Parasiten eine freie geisseltragende Blutform und eine Vermehrung durch Schizogonie nachgewiesen würden, müsste das Genus *Endotrypanum* dem von mir gewählten *Schizotrypanum* vorgezogen werden.

Das *Endotrypanum schaudinni* wird als intraglobulärer *Binucleate* mit vollem Recht von den Autoren als eine Uebergangsform von *Trypanosoma* zu den *Haemosporidien* angesehen; durch seine Morphologie und seinen intracellulären Parasitismus bildet es ebenfalls einen wichtigen Beweis zu Gunsten der Ideen von SCHAUDINN über die engen phylogenetischen Beziehungen zwischen den *Trypanosomen* und der bisherigen Gruppe der *Haemosporidien*.

2. SEXUELLER DIMORPHISMUS.

Trotz mannigfacher Untersuchungen über diese Frage bildet das Vorkommen verschiedener Trypanosomenformen als Ausdruck einer sexuellen Dualität noch immer den Gegenstand divergierender Ansichten. Durch die

No organismo do *Conorhinus* a dualidade morfolojica mais notavel é encontrada nas 2 fórmas das glandulas salivares, sendo uma dellas estreita, munida de grande blefaroplasto e aprezentando nucleo longo, disposto segundo o eixo lonjitudinal do parazito; a outra, de plasma mais largo, mostra menor blefaroplasto na extremidade posterior.

Não podemos, é claro, dos fatos observados nesse parazito, tirar concluzões gerais seguramente aplicaveis ás especies do genero tripanozomo; certo, porém, os fenomenos biolojicos aqui verificados não pódem estar muito distantes dos analogos, ainda mal estudados, nos tripanozômos tipicos.

III. O Schizotrypanum cruzi no organismo do hemiptero transmissor.

As pesquizas fundamentais sobre a intervenção das moscas hematofagas, na etiolojia das tripanozomiazes dos grandes mamiferos, foram realizadas por Bruce, em memoraveis trabalhos sobre o nagana. Já antes, viajantes em certas rejiões da Africa e tambem os indijenas conheciam o efeito malefico das picadas da mosca tse-tse; coube, porém, a Bruce demonstrar experimentalmente a transmissão do parazito do nagana, *Trypanosoma brucei* pela *Glossina morsitans*.

Foi assim iniciado novo capitulo na historia dos tripanozômos e aberta a via para numerozas pesquizas sobre esse assunto, do qual pontos importantes têm escapado, até agóra, ao dezejado esclarecimento.

A transmissão do plasmodio e do proteozoma pelos culícidas indicava serem provaveis fenomenos evolutivos analogos nos tripanozomos. Desde as pesquizas de Bruce, porém, aquella opinião foi abandonada, sendo substituida pela hipoteze da transmissão do parazito ajindo os dipteros como simples veiculadores sem qualquer função biolojica especifica. A' tal concluzão levou o fato de ter Bruce verificado que a *Glossina morsitans* só era transmissora dentro das primeiras 48 hóras apoz a picada contaminante; observações recentes, porém, talvez mais exatas, vieram modificar a noção adquirida.

Arbeiten von Schaudinn wurde zuerst die Aufmerksamkeit der Forscher auf das Vorkommen sexueller Unterschiede bei *Haemoproteus* zu Anfang seines Entwicklungszyclus im Darme des Ueberträgers gerichtet. Beim *Halteridium* dagegen gestattet das verschiedene morphologische Bild der Gameten, welche deutlich zwei Geschlechtern entsprechen, keine weitere Diskussion.

Unter den *Trypanosomen* wurde die Zweigeschlechtlichkeit zuerst von Prowazek bei *Trypanosoma lewisi* angegeben. Bei diesem erleidet die Gestalt des Flagellaten im Magen des *Haematopinus spinulosus* deutliche Veränderungen, durch welche der Dimorphismus, der schon beim Blutparasiten der Ratte erkennbar ist und der Zweizahl der Geschlechter entspricht, noch deutlicher wird. V. Prowazek erkennt zwei Geschlechter an, während er das Vorkommen indifferenter Formen als noch zweifelhaft ansicht. Bei seinen eingehenden Untersuchungen über *Trypanosoma gambiense* gibt Minchin ebenfalls das Vorkommen zweier verschiedener Formen des Trypanosoma im Blute zu und konstatiert auch das Fortdauern dieses Dimorphismus im Anfange der Entwicklung im Darmkanale der *Glossina palpalis*.

Dagegen kommen Breindl und Moore in Beziehung auf *Trypanosoma gambiense, equiperdum* und *lewisi* zu entgegengesetzten Schlüssen; nach ihnen können Befruchtungserscheinungen, wenn sie bei Trypanosomen vorkommen, nur in einer Einwirkung des Blepharoplasts auf den Hauptkern bestehen, welche in der Einwanderung eines Teils der Substanz des ersteren ins Innere des zweiten bestünde. Diese Erscheinung bilde einen wichtigen Akt in der Entwicklungsreihe des Trypanosoma der Wirbeltiere.

Breinl und Moore sehen in der Verschiedenheit der Bluttrypanosomen nur den Ausdruck aufeinander folgender Wachstumsphasen, indem sie bei keiner der — von ihnen studierten — Arten Anzeichen eines sexuellen Dimorphismus auffanden. — Sehen wir nun, was aus meinen Beobachtungen hervorgeht:

Der morphologische Dualismus des *Schizotrypanum cruzi* zeigt sich sehr deutlich in allen Entwicklungsphasen, sowohl beim Wir-

O descobrimento do tripanozômo da molestia do sono determinou tambem, pela maior importancia do assunto, visto tratar-se de molestia humana, numerozas investigações. Dellas vão rezultando, todos os dias, novos conhecimentos, sendo de esperar, seja brevemente rezolvido o importante problema.

Coube a BRUCE e CASTELLANI verificar experimentalmente o papel transmissor da *Glossina palpalis*, repetindo-se aqui fato similar ao da transmissão do nagana, pela *Glossina morsitans*, limitado o periodo infetante do diptero ás primeiras 48 hóras apoz a picada contaminante.

Outros fatos, especialmente a prezença de tripanozomos no organismo de glossinas recem-capturadas, cujo tubo dijestivo se aprezentava vazio de sangue, lavaram alguns pesquizadores a admitir um ciclo evolutivo do flajelado no diptero transmissor.

Foram assim as observações de KOCH a respeito do *Trypanosoma brucei* e *Trypanosoma gambiense* no tubo dijestivo de glossinas. Nestas KOCH distinguiu diferenciações de fórmas que julgava ligadas á diversidade de sexos. Experimentando ainda com o *Trypanosoma gambiense*, KOCH verificou estádios nas glossinas *fusca* e *tachinoides*, de 10 a 20 dias apoz a refeição contaminante.

Similares rezultados deram as pesquizas de STUHLMANN e KUDICKE sobre o *Trypanosoma brucei* na *Glossina fusca*. Para estes autores a evolução do parazito teria inicio pela multiplicação das fórmas indiferentes no intestino posterior, caminhando o tripanozomo dali para o intestino anterior, aonde teria lugar a fecundação e formação dos pequenos parazitos inoculaveis ao vertebrado. O estádio ultimo, porém, com parazitos na cavidade da tromba, só seria atinjido em 10 % das glossinas em experiencia.

Os trabalhos de MINCHIN, GRAY e TULLOCH deram rezultados muito interessantes. Verificaram na *Glossina palpalis*, estádios evolutivos do *Trypanosoma gambiense*, até o 4.º dia apoz a injestão contaminante, sendo a evolução, no *proctodæum*, pela diferenciação morfica do parazito em 2 tipos, interpretados pelos autores como sexos diferentes. Apoz

beltiere, als auch beim übertragenden Insekte. Es handelt sich um fundamentale Strukturdifferenzen, die sich besonders in der Form des Chromatins am Hauptkern und Blepharoplast aussprechen und sich nicht durch das Wachstum erklären lassen, da sie bei beiden Organismen im selben Entwicklungszustande vorkommen. So zeigt bei den Merozoiten der Schizogonieformen aus der Lunge einer derselben, den wir als weiblich ansehen, gleich zu Anfang den Blepharoplast vom Hauptkerne getrennt und in diesem ein viel kleineres Caryosom als bei den Formen, die ich für männliche halte; bei letzteren findet sich in dieser Phase die Substanz des Blepharoplasts noch mit derjenigen des Hauptkernes vereinigt. Auch bei den intraglobulären Formen und den freien Flagellaten im Plasma ist derselbe Dimorphismus deutlich erkennbar; er äussert sich, wie beschrieben, nicht nur in den mehr nebensächlichen, grösseren Verhältnissen des Plasma, sondern auch in der Struktur des Blepharoplasts, welcher in einem Falle ein kleines rundes — im anderen Falle ein grösseres, eiförmiges und fast stets quergelagertes Caryosom aufweist. Auch bei der Struktur des Kernes findet sich dieselbe Duplizität der Bildung, wobei die geringere Chromatinmenge bei einen, der als weiblich aufgefassten, Form hervorzuheben ist. Die jugendlichen Formen, deren Kerne das Chromatin in Form eines langen und längs gelagerten Bandes zeigen, lassen diesen Dimorphismus deutlich erkennen.

Im Organismus des *Conorhinus* zeigt sich die morphologische Dualität am deutlichsten bei den zwei Formen aus den Speicheldrüsen, indem die eine schmale einen grossen Blepharoplast und einen langen Kern aufweist, welcher der Längsachse des Parasiten entsprechend gelagert ist, während der andere, mit breiterem Plasmakörper am Hinterende, einen kleineren Blepharoplasten zeigt.

Ich kann natürlich aus den bei diesen Parasiten beobachteten Tatsachen keine allgemeinen Schlüsse ziehen, welche sich mit Sicherheit auf die Arten des Genus *Trypanosoma* anwenden liessen; doch können die in meinem Falle sehr deutlich beobachteten bio-

o 4.º dia, raramente depois do 5.º, os flajelados dezapareceriam do intestino, não sendo encontrados em qualquer dos orgãos da glossina. Em experiencias com *Stomoxys, Taeniorhincus* e outros dipteros, verificaram os pesquizadores fatos analogos, com mais rapido dezaparecimento dos flajelados.

Nas tentativas de transmissão os rezultados destes experimentadores não trazem ao assunto concluzões gerais decizivas. Só conseguiram infetar novos animais, fazendo-os picar pelas glossinas imediatamente apoz a injestão contaminante. MINCHIN, argumentando com as proprias observações e com as de outros pesquizadores, conclue pela existencia de ciclos evolutivos dos tripanozômos em hospedeiros especificos, não sendo a *Glossina palpalis* o transmissor natural do *Trypanosoma gambiense*, papel incumbido á *Glossina fusca*, segundo as experiencias de KOCH.

De interesse foi ainda nesses trabalhos, a verificação da prezença de 2 tripanozômos no tubo dijestivo das glossinas em liberdade, *Trypanosoma grevi* e *T. tullochi*, muitas vezes confundidos, pelos pesquizadores, com estádios evolutivos dos tripanozômos dos grandes mamiferos e do *Trypanosoma gambiense*.

As investigações referidas, indicando seguramente o papel transmissor das moscas, falavam mais em favor da simples veiculação do flajelado pelo diptero. Realmente, nas tentativas de transmissão experimental, a função infetante do inséto só era exercida num pequeno espaço de tempo apoz a picada contaminante, o que parecia indicar a auzencia do ciclo evolutivo. Outras observações, porém, vinham contradizer as que referimos, mostrando a deficiencia dos conhecimentos nellas adquiridos. De fato, das investigações de BRUMPT, LÉGER, BILLET e KEYSSELITZ rezulta o dezenvolvimento dos tripanozomos dos peixes e das rãs no organismo de hirudineos, só evoluindo certas especies de tripanozomos em determinadas sanguesugas, o que indicava a necessidade de condições biolojicas especiais.

Por outro lado, trabalhos fundamentais de SCHAUDINN sobre o *Haemoproteus* e os de v.

logischen Erscheinungen nicht sehr verschieden sein von den entsprechenden, aber noch wenig erforschten, die bei typischen Trypanosomen vorkommen.

III. Das Schizotrypanum im Organismus des Conorhinus.

Die grundlegenden Forschungen über die vermittelnde Rolle blutsaugender Fliegen bei Trypanosomainfektionen wurden von BRUCE in seinen wertvollen Arbeiten über *Nagana* gemacht. Schon frühere Reisende in gewissen Gegenden Afrikas kannten ebensowohl, wie die Eingeborenen, die verderbliche Wirkung des Stiches der Tsetsefliegen, aber BRUCE zeigte zuerst durch Versuche die Uebertragung des Naganaparasiten, des *Trypanosoma brucei* durch die *Glossina morsitans*. So begann ein neues Kapitel in der Geschichte der Trypanosomen und es öffnete sich die Bahn für zahlreiche neue Untersuchungen über diesen Gegenstand; doch hat sich noch mancher wichtige Punkt der erwünschten Aufklärung entzogen. Die Entwicklungsgeschichte von *Plasmodium* und *Proteosoma* bei den Mücken deutete die Wahrscheinlichkeit ähnlicher Entwicklungsphasen bei Trypanosomen an. Doch wurde diese Ansicht seit den Arbeiten von BRUCE verlassen und durch die Annahme ersetzt, dass die Fliegen bei der Infektion rein mechanische Ueberträger darstellten. Zu diesem Schlusse führte die Beobachtung von BRUCE, dass *Glossina morsitans* nur in den ersten 48 Stunden nach ihrer Infektion (durch Stechen eines kranken Tieres) die Krankheit übertrug, was indessen nach neueren und wohl genaueren Untersuchungen nicht zutrifft.

Auch die Entdeckung des *Trypanosoma* der Schlafkrankheit führte infolge der grossen Wichtigkeit des Gegenstandes — handelte es sich doch um eine Erkrankung des Menschen — zu zahlreichen Forschungen, die täglich unsere Kenntnisse erweitern, so dass man eine baldige Lösung dieses wichtigen Problemes erwarten kann.

BRUCE und CASTELLANI war es vergönnt, die vermittelnde Rolle der *Glossina palpalis* festzustellen, wobei sich die bei der *Nagana*

PROWAZEK sobre o *Trypanosoma lewisi*, revelavam a existencia de ciclos sexuados nos dipteros transmissores.

V. PROWAZEK verificou, no estomago do *Haematopinus spinulosus*, copulação entre individuos de sexos diferentes, com a formação de ooquineto, do qual rezultaria por processos de divizão hetero-polar semelhantes aos descritos por SCHAUDINN, flajelados do tipo critidias.

Os rezultados de v. PROWAZEK foram confirmados nas investigações recentes de BALDREY (*Archiv. fur Protistenkunde*, 1909), destas rezultando mais o fato importante da transmissão do *Trypanosoma lewisi* a um rato indene, por um *Haematopinus*, cuja refeição infetante tivéra lugar 10 dias antes. Nesta verificação de BALDREY rejistra-se um fato de transmissão experimental indireta, apoz estádios evolutivos sistematicamente estudados, ficando aí excluida a veiculação mecanica do flajelado.

Concludentes tambem de um ciclo evolutivo no invertebrado são as recentes experiencias de KLEINE, que verificou a transmissão do *Trypanosoma brucei* pela *Glossina palpalis*, decorrido o prazo minimo de 10 dias, desde a injestão contaminante. Ha que assinalar, nas investigações deste pesquizador, a auzencia do poder infetante do diptero nos primeiros dias depois da picada, fato analogo ao da transmissão do plasmodio e do proteozoma, cuja evolução nos culícidas só se completa apoz determinado tempo. Nas experiencias sobre o *Trypanosoma gambiense* os rezultados de KLEINE são tambem decizivos, verificando o poder infetante das glossinas 20 dias depois de contaminadas, permanecendo infetantes indefinidamente. KLEINE acredita na existencia de faze sexual nos hospedeiros intermediarios, e descreve estádios morficos diversos do parazito, desde o intestino posterior, onde a evolução teria inicio, até as fórmas encontradas na tromba, inoculaveis nos vertebrados.

Os rezultados de E. ROUBAUD, membro da missão de estudos da molestia do sono no Congo francez, registram conhecimentos

gemachte Beobachtung wiederholte, indem die Uebertragung sich auf die ersten 24 Stunden nach der infizierenden Blutaufnahme beschränkte.

Neuere Beobachtungen — besonders das Vorkommen von Trypanosomen im Organismus frisch gefangener und kein Blut enthaltender Glossinen — führten andere Forscher zur Annahme eines Entwicklungszyklus des Flagellaten im Ueberträger. So war es bei den Beobachtungen von KOCH über das Verhalten von *Trypanosoma brucei* und *gambiense* im Verdauungstrakte der Glossinen, wobei er Formenunterschiede feststellte, welche er auf einen sexuellen Dimorphismus zurückführte. Indem er weiter mit *Trypanosoma gambiense* experimentierte, fand KOCH 10-20 Tage nach der Aufnahme infektiösen Blutes Entwicklungsstadien bei *Glossina fusca* und *tachinoides*.

STUHLMANN und KUDICKE erhielten ähnliche Resultate bei ihren Untersuchungen über das Verhalten von *Trypanosoma brucei* in der *Glossina fusca*. Nach diesen Autoren beginnt die Entwicklung durch Vermehrung der indifferenten Formen im Hinterdarme, von wo aus sie nach dem vorderen Abschnitte desselben auswandern, woselbst die Befruchtung und Bildung kleiner, auf Wirbeltiere übertragbarer Parasitenformen stattfinden soll. Doch soll das Endstadium — kleine Flagellaten im Innern des Rüssels — nur bei 10 % der benützten Glossinen erreicht werden.

Die Arbeiten von MINCHIN, GRAY und TULLOCH ergaben sehr interessante Resultate. Sie fanden nämlich bei der *Glossina palpalis* Entwicklungsstadien des *Trypanosoma gambiense* bis 4 Tage nach der Aufnahme parasitenhaltigen Blutes, wobei die Entwicklung im Proktodäum mit dem Auftreten zweier Typen begann, welche nach den Autoren verschiedenen Geschlechtern entsprechen. Nach dem vierten, oder nur selten, nach dem fünften Tage verschwanden die Flagellaten aus dem Darme der Glossinen und wurden auch nirgends in den anderen Organen gefunden. Bei Versuchen mit *Stomoxys*, *Taeniorhynchus* und anderen Zweiflüglern machten sie ähnliche Beobachtungen, wobei indessen die Flagellaten noch rascher verschwanden. Die

novos do mais alto interesse, chegando o autor, sobre alguns pontos do assunto, a concluzões de grande importancia.

Este autor considera 3 modalidades no mecanismo de transmissão dos tripanozomos pelas glossinas:

1. Transmissão direta, imediata, na qual as glossinas ajiriam como lancetas inoculadoras.
2. Transmissão indireta, apoz um periodo de evolução mais demorada, *sem fenomeno sexual;* caminhando nesta o flajelado do intestino posterior, séde de multiplicação ativa, para o *proctodaeum,* e para o canal da tromba.
3. Finalmente, evolução de natureza muito especial, realizada em parazitos morfolojicamente diferenciados, prezos ás paredes internas da tromba.

Nesta ultima modalidade supõe o autor a ocurencia de fenomenos de autogamia, analogos aos descritos nas amebas e em outros protozoarios; delles, porém, não encontrámos, nas descrições, demonstração convincente.

ROUBAUD considera a multiplicação ordinaria dos tripanozomos, verificada no tubo dijestivo de todas as glossinas, alimentadas em animais contaminados, como culturas do parazito, identicas ás obtidas no meio artificial de agar-sangue.

Neste ponto é interessante comparar os rezultados observados com diversas especies de tripanozômos (*brucei, gambiense, dimorphon, congolense, cazalboui,* etc.), verificando-se, assim, que o tempo de permanencia destas especies no tubo dijestivo das moscas é muito variavel, algumas das especies tendo aí pouco tempo de vida, quando outras perduram, em atividade e em multiplicação, até que dezapareçam todos os detritos da dijestão do sangue. De demoradas pesquizas conclue ROUBAUD pela auzencia de migração, das fórmas de cultura, do intestino médio para o anterior e para a tromba, não passando ellas tambem para a cavidade geral ou para qualquer outro orgam da glossina. Assim pois, não serão fórmas que possam infetar,

Uebertragungsversuche dieser Autoren gestatten keine entscheidende Schlüsse, da sie Tiere nur dann infizieren konnten, wenn sie dieselben durch Glossinen stechen liessen, welche soeben infektiöses Blut aufgenommen hatten. Gestützt auf eigene und fremde Beobachtungen schliesst MINCHIN auf das Vorkommen eines Entwicklungskreises der Trypanosomen bei specifischen Zwischenwirten. Für das *Trypanosoma gambiensi* wäre die *Glossina palpalis* nicht der natürliche Ueberträger, während diese Rolle nach den Versuchen von KOCH der *Glossina fusca* zufiele.

In diesen Arbeiten interessiert uns noch das Auffinden zweier Trypanosomen (T. GRAVI und T. TULLOCHI) im Darme frisch eingefangener Glossinen, welche von früheren Forschern häufig mit Entwicklungsstadien von *Trypanosoma gambiense* und verschiedenen Arten aus grossen Wirbeltieren verwechselt wurden.

Obgleich die besprochenen Untersuchungen die Rolle der Fliegen als Ueberträger völlig bestätigten, sprachen sie doch mehr zu gunsten einer einfachen mechanischen Uebertragung der Flagellaten. In der Tat beschränkte sich bei den Uebertragungsversuchen die Funktion der Insekten als Krankheitsvermittler auf eine kurze Frist nach dem Stechen eines infizierten Tieres, was das Bestehen eines Entwicklungszyklus auszuschliessen schien. Diesen Beobachtungen wurde jedoch durch andere widersprochen, welche die Mangelhaftigkeit jener Befunde zeigten. So ging aus den Untersuchungen von BRUMPT, LEGER, BILLET und KEYSSELITZ eine Entwicklung von Fisch- und Froschtrypanosomen im Organismus von *Hirudineen* hervor, wobei sich jede Art nur bei bestimmten Blutsaugern entwickelte, was die Notwendigkeit besonderer biologischer Bedingungen beweist. Andererseits zeigten die fundamentalen Arbeiten von SCHAUDINN über *Hämoproteus* und diejenigen von PROWAZEK über *Trypanosoma lewisi* das Vorkommen sexueller Entwicklungsreihen in den übertragenden Insekten. PROWAZEK fand im Magen von *Hämatopinus spinulosus* eine Kopulation zwischen Individuen verschiedenen Geschlechtes mit darauffolgender Bildung eines *Ookineten,* von wel-

por picada, os vertebrados sensiveis. Os aspétos destes flajelados não são semelhantes aos encontrados nas culturas do *Trypanosoma lewisi*, não se verificando os estádios em critidias; acredita o autor ser esse fato peculiar aos tripanozomos patojenicos.

Lembradas essas experiencias, no intuito de estabelecer paralelo entre ellas e os rezultados de nossos trabalhos, devemos referir ainda a opinião diverjente de alguns pesquizadores, especialmente a de NOVY e MAC NEAL, a de BREINL e MOORE, a de PATTON e a de ROSS.

NOVY e MAC NEAL contestaram os trabalhos de SCHAUDINN sobre o Hemoproteo, opinando, a principio, que se tratava de simples cultura de um tripanozomo da *Athene noctuae* no culex; mais tarde, depois da verificação, multiplas vezes repetida, de flajelados no trato intestinal de insétos, sugadores de sangue ou não, aquelles pesquizadores passaram a interpretar as fórmas flajeladas de SCHAUDINN como sendo parazitos naturais do culex, sem qualquer relação com os hemoparazitos da *Athene noctuae*.

Na infeção natural de hematofagos por flajelados das especies critidia e herpetomonas, NOVY e MAC NEAL encontram a cauza de erro em que supõem incididos outros pesquizadores, descrevendo o dezenvolvimento de tripanozomos de vertebrados no organismo dos insétos.

BREINL e MOORE julgam que o ciclo vital completo de um tripanozomo é realizado no organismo dos vertebrados. Bazea-se essa opinião na prezença de corpos de rezistencia nos orgãos de animais infetados, sendo o aparecimento dellas consecutivo a uma ação do blefaroplasto sobre o nucleo principal. Praa demonstrar ser dispensavel, na evolução dos tripanozomos, uma faze sexuada em invertebrados, lembram o cazo da durina, tripanozomiaze transmitida pelo coito.

PATTON, que tem trazido grande contribuição ao estudo de flajelados do tubo dijestivo de insétos sugadores, acredita que estes exercem, na transmissão dos tripanozomos de vertebrados, o papel simples de veículachem durch eine, der von SCHAUDINN beschriebenen ähnliche, heteropolare Kernteilung Flagellaten von *Crithidia*-typus erzeugt werden.

Die Befunde von PROWAZEK wurden bestätigt durch neuere Untersuchungen von BALDREY (Arch. für Protistenk., 1909); diese ergaben auch die wichtige Tatsache der Uebertragung des *Trypanosoma lewisi* auf normale Ratten durch Läuse, welche 10 Tage vorher infektiöses Blut gesogen hatten. Dieselben Beobachtungen erweisen auch die indirekte experimentelle Uebertragung — nach den systematisch studierten Entwicklungszuständen —, wobei eine mechanische Uebertragung des Flagellaten ausgeschlossen ist.

Auch die neueren Untersuchungen von KLEINE lassen auf einen Entwicklungszyklus beim Ueberträger schliessen; derselbe beobachtete die Uebertragung des *Trypanosoma brucei* durch die *Glossina palpalis* nach einer Minimalzeit von 10 Tagen nach der Aufnahme infektiösen Blutes. Dabei muss auch das Fehlen der Infektiosität der Fliege in den ersten Tagen hervorgehoben werden, in Uebereinstimmung mit der Uebertragung von *Plasmodium* und *Proteosoma*, zu deren vollständiger Entwicklung bei den Mücken eine bestimmte Zeit nötig ist. Auch bei den Versuchen über *Trypanosoma gambiense* waren die Ergebnisse von KLEINE entscheidend; er konstatierte die Infektiosität der Glossinen 20 Tage nach der Blutaufnahme; dieselbe erhielt sich unbeschränkte Zeit. KLEINE glaubt an das Vorkommen sexueller Phasen bei Trypanosomen in den Zwischenwirten und beschreibt verschiedene Parasitenformen, von denjenigen im Hinterdarme — wo die Entwicklung beginnen soll — bis zu den Formen, welche im Rüssel vorkommen und sich auf Wirbeltiere übertragen lassen.

Auch die Versuche von E. ROUBAUD, Mitglied einer Mission zum Studium der Schlafkrankheit im französischen Congo-Gebiete, ergaben wissenschaftliche Resultate von höchstem Interesse. Derselbe erörtert drei Modalitäten des Mechanismus bei der Uebertragung der Trypanosomen durch Glossinen: 1. Direkte, unmittelbare Uebertragung, bei welcher die Glossinen als Inokulationsinstrument die-

dores. Opinião identica é a de Ross, que verificou, nas larvas e ninfas de culícidas, flajelados do genero critidia.

Vamos concluir agóra das nossas investigações:

Experimentando com larvas creadas no laboratorio e tendo excluido a infeção hereditaria de flajelados nellas, nossos rezultados escapam a objeção de ser possivel aqui tratar-se de flajelados naturais do hemiptero. Além de que, larvas testemunhas eram alimentadas em animais normais e nellas nunca encontrámos parazitos.

As experiencias testemunhas tornaram-se necessarias, *maxime* por termos verificado a a prezença de flajelados, no intestino médio, da quazi totalidade de conorrinos, colhidos nas habitações, o que levava a crêr fossem elles parazitos naturais do inséto. Em verdade, não estamos, por emquanto, habilitado a decidir sobre esse ponto, sendo possivel que os conorrinos, transmissores do *Schizotripanum cruzi*, sejam naturalmente parazitados por flajelados do genero critidia. Para explicar a infeção da totalidade de conorrinos por flajelados, admitindo que estes reprezentem sempre estádios evolutivos do *Schizotripanum*, fôra necessario supôr outro módo de contaminação do hemiptero, talvez a infeção das larvas pelos excrementos de hemipteros já infetados (Lutz). Isso, porque a picada de vertebrados contaminados certamente não ocazionaria, com tanta constancia, infeção dos conorrinos. Verdade é que não existe diferença alguma morfolojica, entre os flajelados do tubo díjestivo das larvas infetadas no laboratorio e os dos conorrinos colhidos nas rezidencias humanas. Por outro lado, a inoculação em cobaias do material do intestino de larvas, experimentalmente contaminadas, forneceu-nos diversos rezultados positivos, falhando algumas vezes, o mesmo acontecendo aos flajelados do intestino de insétos recem-capturados. Seja como fôr, embóra devamos voltar a novas pesquizas para esclarecer amplamente a natureza dos flajelados do intestino de conorrinos em liberdade, nossas observações sobre o dezenvolvimento do *Schizotrypanum* acham-se izentas de qualquer

nen. 2. Indirekte Uebertragung nach einer längeren Entwicklungsperiode, aber ohne geschlechtliche Phase, bei welcher der Flagellat — nach aktiver Vermehrung im Hinterdarme — nach dem Vorderdarme und dem Kanale des Rüssels auswandert. 3. Endlich, eine Evolution von besonderer Art, welche sich an, der Form nach verschiedenen, Parasiten vollzieht, die den inneren Wänden des Rüssels anhaften. Bei letzterem Modus vermutet der Autor das Vorkommen von Autogamie, analog mit derjenigen, die bei Amoeben und anderen Protozoen beschrieben ist; doch fand ich in den Beschreibungen keinen überzeugenden Nachweis desselben.

Roubaud sieht in der gewöhnlichen Vermehrung der Trypanosomen, die im Darmkanal aller an infizierten Tieren ernährten Glossinen gefunden wurde, eine Kultur des Parasiten, welche mit derjenigen übereinstimmt, welche man auf Blut-Agar erhält. Dabei ist es von Interesse, die Resultate zu vergleichen, die man bei verschiedenen Arten von *Trypanosoma* (*brucei* — *gambiense* — *dimorphon* — *congolense* — *cazalboui* etc.) erhält; man konstatiert dabei, dass die Zeit der Permanenz im Darmkanale der Fliegen bei den verschiedenen Arten sehr variirt, indem einige daselbst nur kurze Zeit leben, während andere volle Aktivität und Vermehrung zeigen, bis die Reste des verdauten Blutes verschwinden. Aus lange dauernden Untersuchungen schliesst Roubaud auf das Fehlen einer Migration der Kulturformen vom Mitteldarme nach dem Vorderdarme und dem Rüssel; ebensowenig sollen sie nach der Leibeshöhle oder einem anderen Organ der Glossinen wandern. Demgemäss wären es Formen, welche nicht durch den Stich auf Wirbeltiere verimpft werden können. Die Bilder dieser Flagellaten gleichen keineswegs denjenigen in den Kulturen von *Trypanosoma lewisi*, indem hier die Crithidiaform nicht gefunden wird. Dieses Verhältniss ist nach der Meinung des Autors den krankheitserzeugenden Trypanosomen eigentümlich.

Nach Rekapitulierung dieser Versuche, zum Zweck der Vergleichung derselben mit meinen Ergebnissen, muss ich noch einige abweichende Meinungen erwähnen, besonders die-

objeção, uma vez que fôram praticadas no laboratorio em larvas aí nacidas.

Temos, em nossas experiencias, diversos rezultados pozitivos de transmissão do *Schizotrypanum cruzi* pelo conorrino, larva ou adulto, 10 ou mais dias depois da injestão contaminante. O prazo minimo, até agóra verificado, para que o inséto se torne infetante, é de 10 dias; quanto ao tempo de duração do poder infeciozo não o avaliámos ainda, sendo todavia longo, confórme rezulta de algumas experiencias. Fica, dest'arte, excluido o papel mecanico excluzivo do hemíptero, e mesmo que esse possa atuar como simples veículador na transmissão imediata do parazito, o que nunca verificámos, a função principal será de hospedeiro intermediario, no qual o flajelado passa por ciclo evolutivo, que se completa no prazo minimo de 10 dias.

No *Conorhinus*, o *Schizotrypanum cruzi* aprezenta duas modalidades evolutivas bem distintas: uma dellas é constante e se observa sempre que o inséto suga vertebrado infetado, qualquer que seja. Desta o ultimo estádio é o de parazitos, com tipo de critidias, do intestino médio. As fórmas aqui encontradas são inteiramente analogas ás das culturas artificiais e as larvas, apezar de aprezentarem os parazitos no intestino, não são infetantes para outros vertebrados. Pensámos ser esse um dezenvolvimento identico ao das culturas em agar-sangue, não tendo elle nenhuma importancia na transmissão do *Schizotrypanum*. Cazo analogo é o referido nos trabalhos de ROUBAUD; no nosso cazo porém, devido ás condições anatomo-fiziolojicas especiais, os detritos da dijestão do sangue permanecem por muitos dias no intestino do conorrino sendo, por isso, longa a permanencia dos flajelados.

Não seria talvez inaceitavel a hipoteze de que esse dezenvolvimento reprezenta a multiplicação das fórmas indiferentes, admitindo com SCHAUDINN, a existencia dellas; ou será a multiplicação de fórmas femeas não fecundadas.

Verificámos muitas vezes, a auzencia de migração dos flajelados, do intestino médio

jenigen von NOVY und MAC NEAL, BREINL und MOORE, PATTON und die von ROSS.

NOVY und MAC NEAL traten den Arbeiten von SCHAUDINN über *Haemoproteus* entgegen, indem sie zuerst glaubten, dass es sich nur um die Kultur eins Trypanosoma der *Athene noctuae* in den Mücken handle; später nach vielfach wiederholtem Auffinden von Flagellaten bei blutsaugenden und anderen Insekten — glaubten diese Forscher die Flagellatenformen von SCHAUDINN als natürliche Parasiten der Mücke — ohne irgendwelche Beziehung zu den Blutparasiten des Kauzes — auffassen zu dürfen.

In einer solchen natürlichen Infektion blutsaugender Insekten durch Arten von *Crithidia* und *Herpetomonas* suchen NOVY und MAC NEAL die Ursache der Irrtümer, in welche ihrer Meinung nach andere Forscher verfielen, wenn sie die Entwicklung von Wirbeltiertrypanosomen im Organismus von Insekten beschrieben.

BREINL und MOORE glauben, dass der vollständige Entwicklungskreis eines Trypanosomas im Organismus der Wirbeltiere stattfindet. Sie stützen ihre Meinung auf das Vorkommen von Widerstandsformen in den Organen der infizierten Tiere; das Auftreten derselben sei die Folge einer Einwirkung des Blepharoplasten auf den Hauptkern (Autogamie). Sie erinnern an den Fall der Dourine, bei welcher die Trypanosomen durch Coitus übertragen werden, um zu beweisen, dass im Entwicklungskreise der Trypanosomen eine sexuelle Phase im Innern des Ueberträgers entbehrlich ist.

PATTON, der vielfache Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten aus dem Darme von Insekten geliefert hat, glaubt, dass letztere bei der Uebertragung der Wirbeltiertrypanosomen die Rolle bloss mechanischer Ueberträger spielen. Dieselbe Meinung hat ROSS, welcher bei Larven und Nymphen von Culiciden Flagellaten des Genus *Crithidia* fand.

Ich komme nun zu den Schlüssen aus meinen eigenen Untersuchungen: Da ich mit Larven arbeitete, die im Laboratorium gezüchtet waren, auch eine erbliche Uebertragung der Flagellaten ausgeschlossen hatte, so ent-

para as partes anteriores do tubo dijestivo do inséto, examinando, logo apoz as refeições do *Conorhinus*, o conteúdo do intestino anterior. Aí não são encontradas, nesse momento, fórmas de critidias o que deveria acontecer si a infeção do vertebrado fosse determinada pela acensão, no ato da picada, dos flajelados do intestino médio até a tromba.

De acôrdo com esses fatos, os estádios de critidias, no *Conorhinus*, nenhuma significação tem para a infeção do vertebrado; reprezentam talvez, um retrocesso á condição larvaria primitiva, devido ás influencias do meio, podendo ainda servir, cazo haja infeção pelos excrementos, para manter a vida do protozoario nas gerações sucessivas de conorrinos.

Da outra modalidade de evolução, que reprezenta, a nosso vêr, o verdadeiro ciclo evolutivo do flajelado, eficaz na transferencia delle entre vertebrados, surpreendemos 4 estádios diversos: 2 no intestino anterior, reprezentados pelos organismos da Est. 12, Fig. 78-82 e pela fórma esquizogonica da Est. 12, Fig. 89, 1 na cavidade geral e o ultimo nas glandulas salivares.

Não conhecemos o determinismo do aparecimento destas fórmas; nossas experiencias, porém, mostram serem as duas primeiras observadas, com frequencia, nas larvas alimenmentadas em *Callithrix*, inicialmente infetados pelo hemiptero, ao passo que não conseguimos obtel-as quando experimentando com larvas infetadas em cobaias. Por outro lado, nas tentativas de transmissão pelas picadas do inséto, verificámos fatos similares, isto é, o poder infetante das larvas contaminadas nos *Callithrix* e a auzencia delle nas nutridas em cobaias, cuja infeção era produzida por inoculação de sangue.

Raciocinando sobre esses rezultados, somos levado a admitir uma condição especial do flajelado, da qual dependeria a ocurrencia do ciclo evolutivo sexuado, no organismo do inséto trsnsmissor. Para o *Schizotrypanum cruzi* aquella condição seria realizada no *Callithrix penicillata* e provavelmente no homem,

gehen meine Resultate dem Einwurfe, dass es sich um natürlich bei Hemipteren vorkommende Flagellaten handle. Ausserdem wurden andere Larven zur Kontrolle an gesunden Tieren ernährt, wobei immer die Parasiten fehlten.

Kontrollexperimente waren geboten, besonders, weil ich Flagellaten im Mitteldarme fast aller in Wohnungen gefangener Conorhinen fand, was dazu verleiten könnte, sie für natürliche Parasiten des Insektes anzusehen. In der Tat kann ich zur Zeit diese Frage nicht entscheiden, da es möglich ist, dass die Conorhinen, welche das *Schizotrypanum cruzi* übertragen, natürlich mit Flagellaten des Genus *Leptomonas (Crithidia)* infiziert sind. Zur Erklärung der Infektion sämtlicher Conorhinen durch Flagellaten — vorausgesetzt, dass diese Entwicklungsformen des *Schizotrypanum* darstellen — wäre es nötig, einen anderen Infektionsmodus bei den Wanzen anzunehmen, z. B. die Infektion der Larven durch die Exkremente bereits infizierter Individuen (LUTZ). Es ist nämlich kaum anzunehmen, dass das Stechen infizierter Wirbeltiere mit solcher Regelmässigkeit die Infektion der Conorhinen herbeiführen würde. Allerdings existiert kein Unterschied zwischen den Parasiten aus dem Darme im Laboratorium infizierter Larven und solcher von Conorhinen, die in menschlichen Wohnungen gefangen wurden. Andererseits ergab mir die Einimpfung von Material aus dem Darme experimentell infizierter Larven auf Meerschweinchen, neben einigen negativen, verschiedene positive Ergebnisse und dasselbe geschah bei Flagellaten aus dem Darme frisch gefangener Wanzen. Obwohl ich nun meine Untersuchungen wiederholen muss, um die Natur der Flagellaten aus dem Darme freilebender Conorhinen vollständig aufzuklären, so sind doch meine Beobachtungen über die Entwicklung des *Schizotrypanum* vollständig einwandsfrei, da sie mit im Laboratorium gezüchteten Larven angestellt wurden.

Ich erhielt bei meinen Versuchen über die Uebertragung des *Schizotrypanum cruzi* durch *Conorhinus* im erwachsenen oder Larven-Zustande verschiedene positive Resultate zehn

sendo estes os hospedeiros capazes de infetar conorrinos que se tornariam infetantes. Devemos aqui referir as nossas ultimas observações a respeito da morfolojia do parazito no organismo das cobaias. Nas primeiras investigações realizadas em *Callithrix* e cobaias, era constante e muito evidente o dimorfismo do flajelado, confórme referimos e vem demonstrado em nossos dezenhos; actualmente, porém, talvez devido a repetidas passajens pelo organismo de cobaias, os parazitos se aprezentam, quazi sempre, com um unico aspéto morfico, não havendo agóra a primitiva evidencia do dimorfismo.

Como explicar essa mudança na morfolojia do parazito? Será uma adaptação lenta ao organismo da cobaia, rezultando daí a predominancia de uma fórma do esquizotripano, que seria a indiferente?

Devemos voltar a novas observações sobre esse fato, para dizer delle com segurança.

A influencia de certa condição dos tripanozomos, no sangue dos vertebrados, sobre a infeção dos insétos, vem admitida nos rezultados das pesquizas de KOCH. Este verificou tornarem-se infetantes as glossinas que sugavam vertebrados com pequeno numero de parazitos, ao passo que outras, alimentadas em animais com abundancia de tripanozômos, não adquiriam o poder transmissor. Assim, pois, nossa dedução, bazeada em diversas experiencias, incide na daquelle observador.

De grande importancia foi a nossa verificação de parazitos na cavidade geral e nas glandulas salivares do conorrino. Retiravamos o liquido da cavidade, amputando as pernas ou pela punção, com tubos capilares, do abdome, não podendo sofrer duvida a observação. Os insétos que aprezentavam fórmas parazitarias na cavidade geral mostraram, no intestino médio, fórmas de critidias, aí não sendo visto nenhum parazito com blefaroplasto posterior ao nucleo principal. Quanto aos flajelados das glandulas salivares, aprezentam aspéto morfolojico muito especial, diverso do verificado em todos os outros estádios da evolução. Nenhuma duvida temos que sejam aquellas as fórmas infetantes dos

oder mehr Tage nach der infektiösen Blutaufnahme. Bis jetzt sind 10 Tage der kürzeste Termin, der nach meinen Feststellungen nötig war, um dem Ueberträger die Eigenschaft der Infektiosität zu verleihen; wie lange letztere anhält, kann ich noch nicht angeben, doch beweisen mehrere Versuche eine lange Dauer derselben.

Auf diese Weise wird bei Conorhinus die Rolle des mechanischen Ueberträgers ausgeschlossen; wenn derselbe auch als einfacher Träger des Virus funktionieren könnte, was ich niemals beobachtete, so bliebe doch seine Hauptrolle diejenige des Zwischenwirtes, in welchem der Flagellat einen Entwicklungskreis durchmacht, zu dessen Vollendung ein Minimum von 10 Tagen nötig ist. Das *Schizotrypanum cruzi* zeigt beim *Conorhinus* zwei deutlich verschiedene Arten der Entwicklung; eine derselben ist konstant und wird immer beobachtet, wenn das Insekt ein infiziertes Wirbeltier beliebiger Art sticht; ihr letztes Stadium besteht in Parasiten des Mitteldarms von *Leptomonas*-typus (*Crithidia*). Die hier gefundenen Formen stimmen vollständig mit solchen aus künstlichen Kulturen überein und die Larven sind für andere Wirbeltiere nicht infektiös, obwohl sie Parasiten im Darme aufweisen. Ich halte diese Entwicklungsart für gleichwertig mit derjenigen der Blut-Agar-Kulturen und ohne Bedeutung für die Uebertragung des *Schizotrypanum*. Es ist dies ein analoger Fall mit dem oben von ROUBAUD berichteten, jedoch bleiben, wegen besonderer anatomischer und physiologischer Bedingungen, die Residuen der Blutverdauung längere Zeit im Darme des *Conorhinus*, was die lange Permanenz der Flagellaten erklärt.

Wie mir scheint, ist die Hypothese nicht ohne weiteres abzulehnen, dass diese Entwicklungsart eine Vermehrung der indifferenten Formen darstellt (wenn man mit SCHAUDINN das Vorkommen solcher annimmt); es kann sich aber auch um eine Vermehrung unbefruchteter weiblicher Formen handeln.

Das Fehlen einer Ueberwanderung der Flagellaten aus dem Mitteldarme nach den mehr nach vorne gelegenen Partien des Darmkanales habe ich oftmals festgestellt, indem

vertebrados; julgámos, porém, necessario praticar novas pesquizas para melhor esclarecimento desta faze.

O outro ponto, sobre o qual devemos insistir, é a natureza da divizão nuclear nos tripanozômos. BREINL e MOORE, uzando aliaz processos seguros de fixação e de coloração, julgam que a divizão do nucleo principal dos tripanozomos é amitozica, nunca tendo verificado os aspétos de mitoze referidos por V. PROWAZEK.

Estudando a multiplicação do parazito, no intestino do conorrino, tivémos oportunidade de referir fazes de mitoze bem evidentes. Posteriormente, no sangue periférico de uma cobaia, observámos uma figura de mitoze do nucleo principal, que rezolve, pela sua clareza, definitivamente a questão. (Est. 12, Fig. 88). Aí se observam duas placas secundarias (placas filhas) de cromozomios, situadas sobre o fuzo de substancia acromatica; no centro deste é vizivel o filamento central, em cujas extremidades se encontram os dois centriolos. Trata-se ainda, nesse cazo, de divizão precoce do nucleo, precedendo a esquizogonia no pulmão.

Rezumindo:

1.º O *Schizotrypanum cruzi* aprezenta, no organismo do conorrino, duas modalidades de dezenvolvimento, reprezentando a primeira simples cultura do parazito; a outra, provavelmente precedida de fenomenos sexuais não surpreendidos, será, talvez, o ciclo evolutivo, eficaz na transmissão entre os vertebrados.

2.º O *Conorhinus* é um verdadeiro hospede intermediario do *Schizotrypanum*, cujo ciclo é realizado num prazo minimo de 10 dias.

3.º Os flajelados, com tipo de critidias encontrados nos conorrinos em liberdade, podem reprezentar estádios culturais do *Schizotrypanum* ou serão parazitos exclusivos do inséto.

4.º A ocurrencia do ciclo evolutivo sexuado, no organismo do conorrino, depende de condição, não explicada, dos flajelados no sangue dos vertebrados.

ich bei den Conorhinen kurz nach der Nahrungsaufnahme den Vorderdarminhalt untersuchte. Man findet hier zu solcher Zeit keine *Crithidien*-formen, wie es sein müsste, wenn die Ansteckung der Wirbeltiere beim Stiche durch das Aufsteigen der Flagellaten aus dem Mitteldarme nach dem Rüssel stattfände.

In Uebereinstimmung mit diesen Tatsachen haben die *Crithidien*-stadien im Conorhinus keine Bedeutung für die Infektion des Wirbeltieres; vielleicht repräsentieren sie ein Zurückkehren zu einem phylogenetisch ursprünglichen Zustande als Folge der Einflüsse des Mediums; dabei könnten sie, wenn es eine Infektion durch Exkremente gibt, dazu dienen, das Leben der Protozoen auch in auf einander folgenden Generationen von Conorhinen zu erhalten.

Die andere Entwicklungsart vertritt meines Erachtens den eigentlichen Entwicklungszyklus des Parasiten, der bei seiner Uebertragung auf Wirbeltiere zur Geltung kommt; ich habe von demselben vier verschiedene Stadien angetroffen: zwei im Vorderdarm, nämlich die runden Formen (Taf. 12, Fig. 78—82), und die Schizogonieform (Taf. 12, Fig. 89), ferner eine aus der Körperhöhle und die letzte aus den Speicheldrüsen.

Die veranlassenden Umstände des Auftretens dieser Formen kenne ich noch nicht, doch zeigen meine Versuche die Häufigkeit des Vorkommens der beiden ersten bei Larven, welche an — ursprünglich durch Wanzen infizierten — *Callithrix*-affen gefüttert wurden. Dagegen konnte ich sie nicht erhalten, wenn ich mit an Meerschweinchen infizierten Larven experimentierte. Andererseits beobachtete ich ähnliche Verhältnisse bei Versuchen durch den Stich der Conorhinen, nämlich die Infektiosität der Larven, welche durch die Aeffchen infiziert waren und das Fehlen einer solchen bei Larven, welche an — durch Blutinjektion infizierten — Meerschweinchen genährt wurden.

Beim Ueberlegen dieser Ergebnisse sehe ich mich veranlasst, einen besonderen Zustand der Flagellaten anzunehmen, von dem das Auftreten eines geschlechtlichen Entwicklungszyklus im Organismus des Ueberträgers ab-

Ao terminar, cumprimos o grato dever de afirmar o maior reconhecimento ao nosso mestre e Diretor Dr. GONÇALVES CRUZ, a cuja orientação devemos o rezultado destas pesquizas. Somos ainda profundamente grato aos nossos mestres, Professores S. VON PROWAZEK e M. HARTMANN, de quem recebemos os melhores ensinamentos para concluzão deste trabalho. Tambem somos em extremo obrigado ao Dr. ADOLPHO LUTZ, cujo auxilio nos foi do mais alto proveito.

Tivemos sempre, como esforçado companheiro de trabalho na zona infestada pela nova especie morbida, o Dr. BELISARIO PENNA, a quem devemos os inestimaveis proveitos de um auxilio eficaz.

---

hängt. Für das *Schizotrypanum cruzi* fände sich dieser Zustand bei *Callithrix penicillata* und wahrscheinlich beim Menschen; sind doch diese die Wirte, welche die Conorhinen infektiös machen können.

Hier muss ich auch meine letzten Beobachtungen über die Morphologie des Parasiten im Organismus der Meerschweinchen anführen. Bei den ersten Untersuchungen, welche an *Callithrix* und Meerschweinchen vorgenommen wurden, war der Dimorphismus der Flagellaten konstant und in die Augen springend, wie aus meiner Darstellung und den Zeichnungen hervorgeht; heute dagegen — vielleicht als Folge wiederholter Meerschweinchenpassagen — zeigen die Parasiten fast immer eine einzige Form, ohne den ursprünglichen auffälligen Dimorphismus. Wie erklärt sich diese Veränderung in der Morphologie des Parasiten? Ist es eine langsame Anpassung an den Meerschweinchenorganismus, durch welche das Vorwiegen einer Form des *Schizotrypanum*, nämlich der indifferenten, zustandekommt? Um dies mit Sicherheit zu beantworten muss ich meine Beobachtungen in Hinsicht auf diese Frage wieder aufnehmen.

Der Einfluss eines bestimmten Zustandes der Trypanosomen im Blute der Wirbeltiere auf die Infektion der Insekten wird in den Resultaten der Forschungen von KOCH zugegeben. Derselbe stellte fest, dass Glossinen infektiös wurden, wenn sie Blut von Wirbeltieren mit wenig Parasiten sogen, während andere, die an Tieren mit grosser Parasitenzahl ernährt wurden, die Uebertragungsfähigkeit nicht erwarben. So stimmt meine auf andere Experimente basierte Schlussfolgerung mit der jenes Forschers überein.

Sehr wichtig war die Feststellung des Vorkommens von Parasiten in den Speicheldrüsen und dem Lacunom der Conorhinen. Ich entnahm die Flüssigkeit des letzteren durch Abschneiden der Beine oder Punktion des Abdomens mittelst Capillaren, sodass die Beobachtung einwandfrei ist. Die Wanzen, welche Parasiten des Lacunoms zeigten, boten im Mitteldarm nur *Crithidien*-formen, bei Fehlen vom Parasiten mit hinter dem Haupt-

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909

ESTAMPA 9

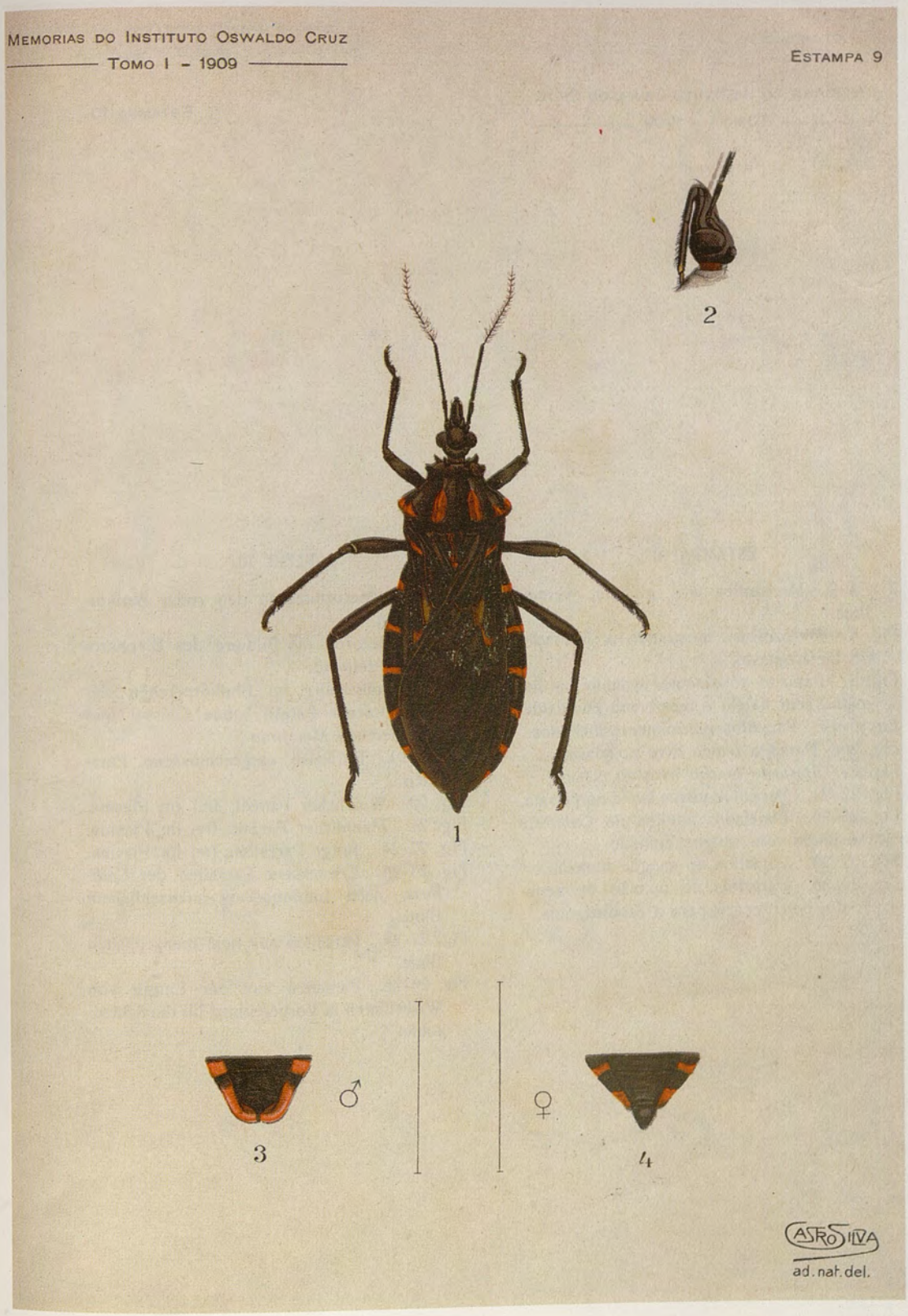
Fig. 1. *Conorhinus megistus* BURM. transmissor de *Schizotrypanum cruzi.*
Fig. 2. Cabeça do *Conorhinus,* vista de perfil, mostrando a tromba sugadora.
Fig. 3. Ultimo segmento abdominal do ♂.
Fig. 4. Item da ♀.

Nota — Os traços entre os dezenhos 3-4 dão os tamanhos naturais dos insétos ♂ e ♀

TAFEL 9

Fig. 1. *Conorhinus megistus.* BURM. Ueberträger des *Schizotrypanum cruzi.*
Fig. 2. Kopf des *Conorhinus,* im Profil, den Saugrüssel zeigend.
Fig. 3. Letztes Abdominalsegment des ♂.
Fig. 4. Dasselbe des ♀.

Anmerkung — Die Striche zwischen den Zeichnungen 3 und 4 geben die natürliche Grösse beider Geschlechter an.


MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909
ESTAMPA 9
2
1
3
♂
♀
4
CASTRO SILVA
ad. nat. del.

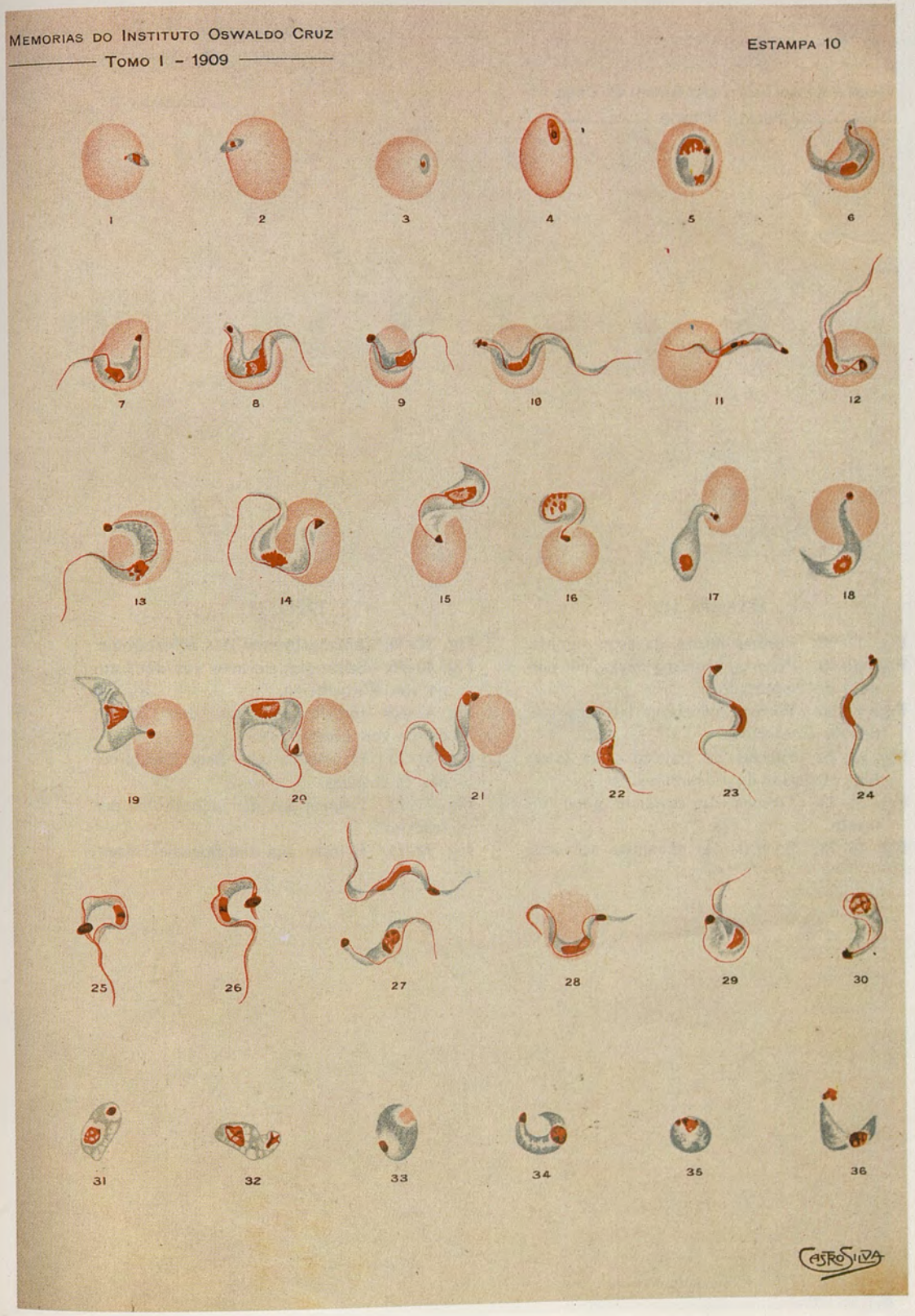
MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909

ESTAMPA 10

Fig. 1-3. Merozoitos nos globulos vermelhos.
Fig. 4. Merozoitos, mostrando a formação do blefaroplasto.
Fig. 5. Parazito totalmente incluido na hemátia, sem flajelo e membrana ondulante.
Fig. 6-19. Parazitos parcialmente incluidos.
Fig. 20. Parazito femeo livre no plasma.
Fig. 21. Parazito macho livre no plasma.
Fig. 22-24. Parazitos novos livres no plasma.
Fig. 25-26. Flajelados adultos no *Callithrix* inoculado com sangue humano.
Fig. 27-28. Parazitos do sangue humano.
Fig. 29-36. Parazitos no pulmão do vertebrado, em preparo para a esquizogonia.

TAFEL 10

Fig. 1-3. Merozoiten in den roten Blutkörperchen.
Fig. 4. Merozoit die Bildung des Blepharoplasten zeigend.
Fig. 5. Vollständig im Blutkörperchen eingeschlossener Parasit, ohne Geissel und undulierende Membran.
Fig. 6-19. Teilweise eingeschlossene Parasiten.
Fig. 20. Weiblicher Parasit, frei im Plasma.
Fig. 21. Männlicher Parasit, frei im Plasma.
Fig. 22-24. Junge Parasiten, frei im Plasma.
Fig. 25-26. Erwachsene Parasiten der *Callithrix,* nach Impfung mit menschlichem Blute.
Fig. 27-28. Parasiten aus dem menschlichen Blute.
Fig. 29-36. Parasiten aus der Lunge von Wirbeltieren in Vorbereitung für die Schizogonie.


MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909
ESTAMPA 10
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
CASTRO SILVA

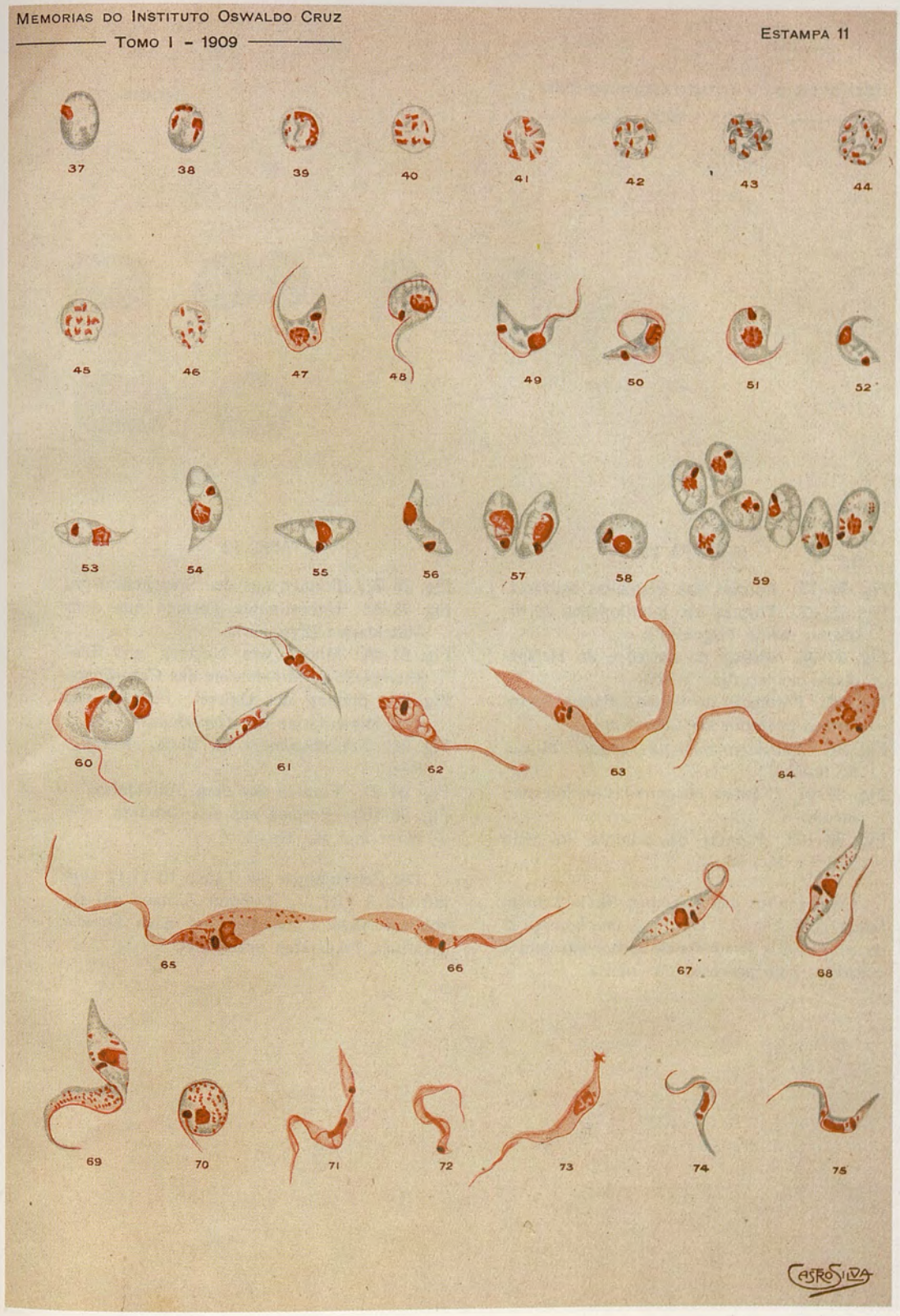
MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909

ESTAMPA 11

Fig. 37-39. Fórmas iniciais da esquizogonia.
Fig. 40-46. Fórmas esquizogonicas no pulmão do vertebrado.
Fig. 47-60. Fórmas iniciais no intestino médio do *Conorhinus*.
Fig. 61-70. Fórmas de flajelados do intestino posterior do *Conorhinus*.
Fig. 71-73. Fórmas da cavidade geral do inséto.
Fig. 74-75. Fórmas das glandulas salivares.

TAFEL 11

Fig. 37-39. Anfangsformen der Schizogonie.
Fig. 40-46. Schizogonieformen aus der Lunge von Wirbeltieren.
Fig. 47-60. Initialformen aus dem Mitteldarme von *Conorhinus*.
Fig. 61-70. Flagellaten aus dem Enddarme des *Conorhinus*.
Fig. 71-73. Formen aus der Leibeshöhle des Insektes.
Fig. 74-75. Formen aus den Speicheldrüsen.


MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909
ESTAMPA 11
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
CASTRO SILVA

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909

ESTAMPA 12

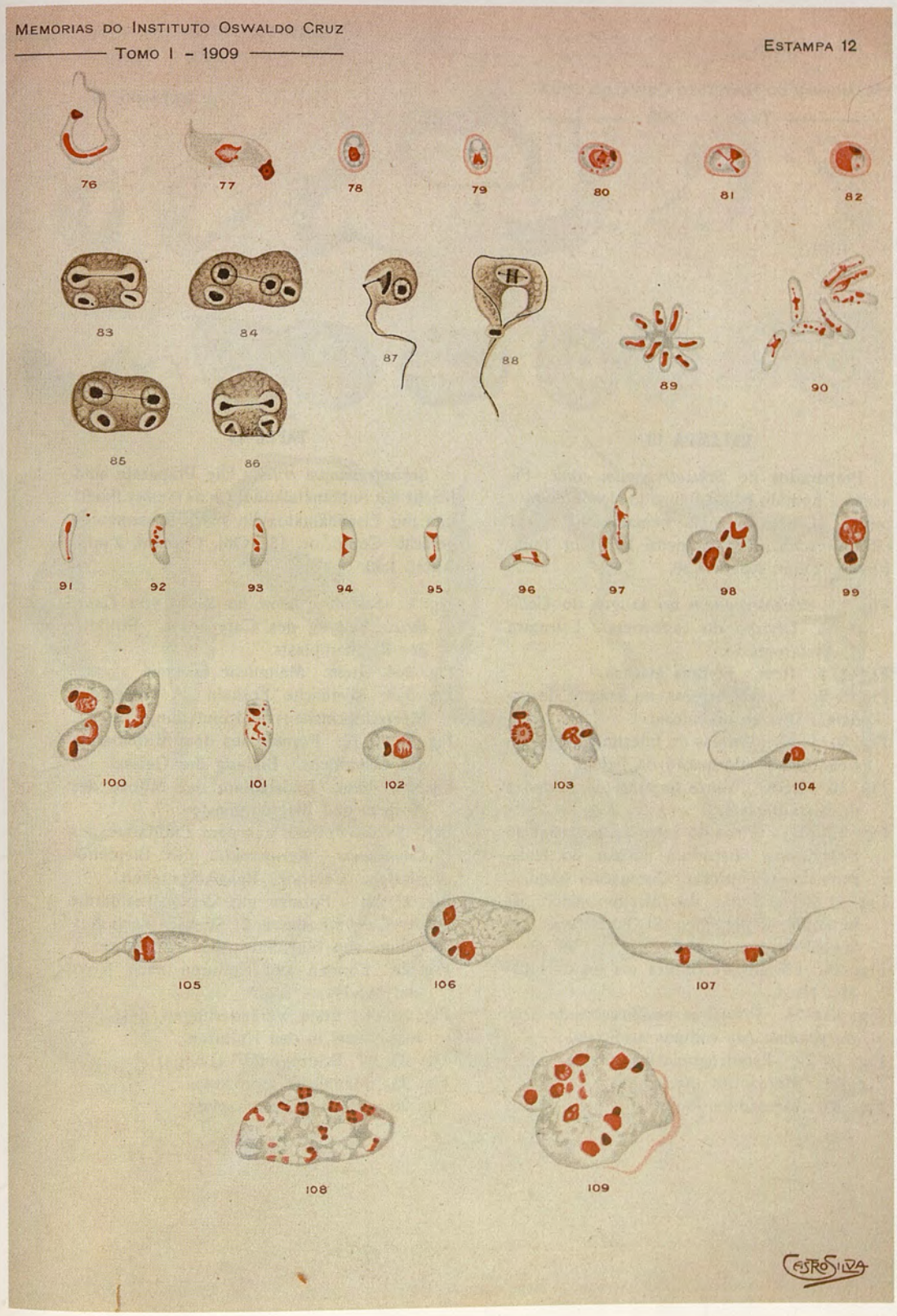
Fig. 76-77. Fórmas das glandulas salivares.
Fig. 78-82. Fórmas não interpretadas do intestino médio (zigotos?).
Fig. 83-86. Mitoze do nucleo e do blefaroplasto no intestino médio.
Fig. 87. Formação do flajelo. Fórma do intestino posterior do *Conorhinus*.
Fig. 88. *Schizotrypanum* no sangue. Mitoze do nucleo.
Fig. 89-97. Fórmas encontradas no intestino médio.
Fig. 98-109. Fórmas de culturas no meio NOVY e MC. NEAL.

Os dezenhos das estampas 10-11-12 foram feitos com Oc. 5. Obj. $^1/_{12}$ im. homoj. Z. de preparados fixados pelo alcool absoluto e coloridos pelo processo de GIEMSA.

TAFEL 12

Fig. 76-77. Formen aus den Speicheldrüsen.
Fig. 78-82. Unbestimmte Formen aus dem Mitteldarme (Zygoten?).
Fig. 83-86. Mitose von Nucleus und Blepharoplast im Mitteldarme des *Conorhinus*.
Fig. 87. Bildung der Geissel. Formen aus dem Hinterdarme des *Conorhinus*.
Fig. 88. *Schizotrypanum* im Blute. Kernmitose.
Fig. 89-97. Formen aus dem Mitteldarme.
Fig. 98-109. Formen aus den Culturen nach NOVY und MC. NEAL.

Die Zeichnungen der Tafeln 10-11-12 sind mit Oc. 5. Obj. $^1/_{12}$ Oelimm Z. nach mit absolutem Alkohol fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten gezeichnet.


MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909
ESTAMPA 12
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
CASTRO SILVA

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909

ESTAMPA 13

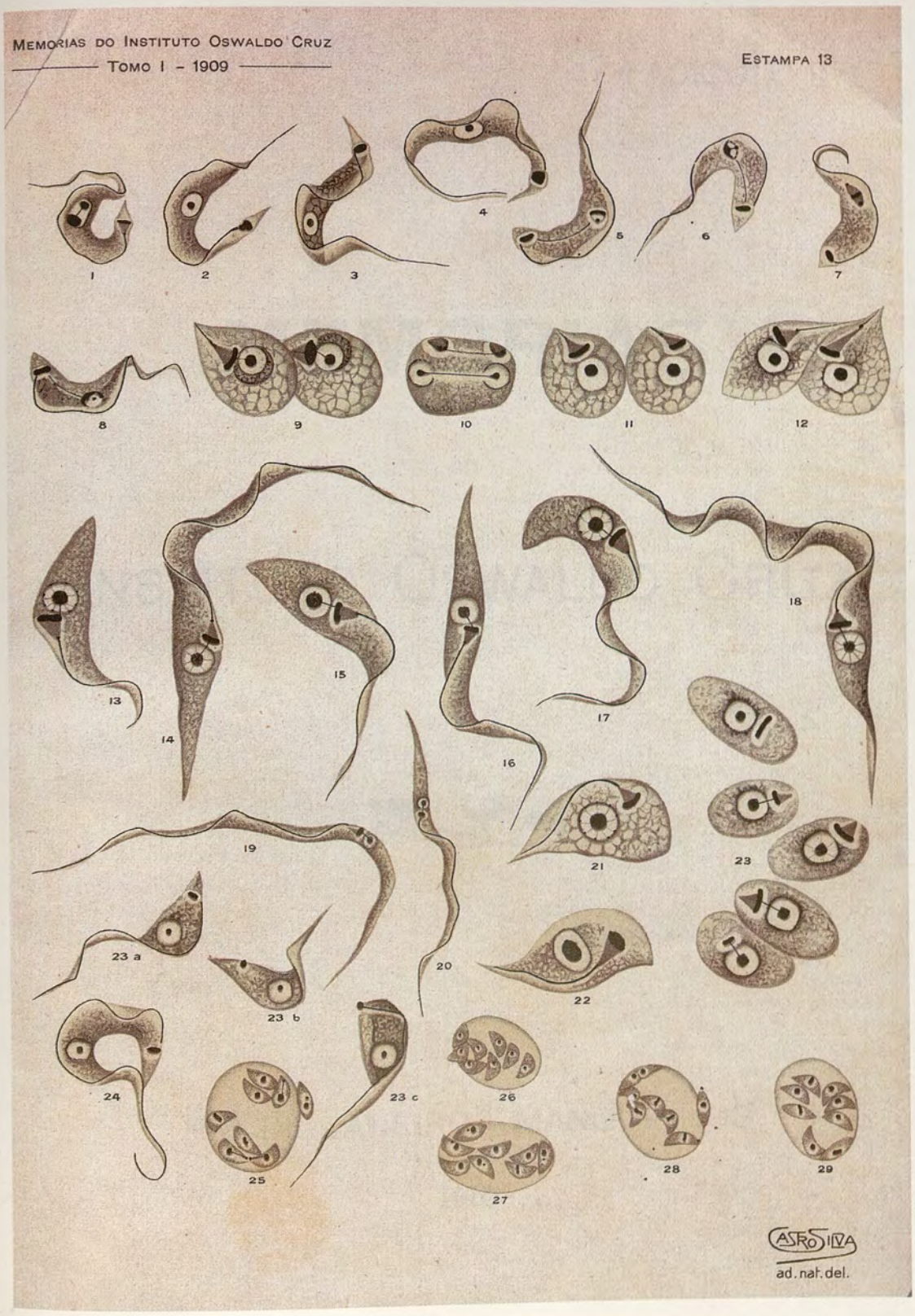
Preparados do *Schizotrypanum cruzi*. Fixação á humido pelo sublimado-alcool (SCHAUDINN). Coloração pela hematoxilina ferrea (ROSENBUSCH). Oc. compens. 18. Obj. imm. homoj. 2 mm. Apert. 1.30.

Fig. 1. *Schizotrypanum* no sangue do *Callithrix*. Divizão do cariozoma. Estrutura do blefaroplasto.
Fig. 2-4. Item. Fórmas machas.
Fig. 5-8. Fórmas femeas no sangue de cobaia. Divizão do nucleo.
Fig. 9-11-12. Fórmas do intestino médio do *Conorhinus*. Formação do flajelo.
Fig. 10. Item. Mitoze terminal do nucleo e do blefaroplasto.
Fig. 13-20. Fórmas do intestino posterior do *Conorhinus*. Estrutura nuclear do blefaroplasto. Centriolo. Corpusculo bazal.
Fig. 21-22. Fórmas do intestino médio de larva de *Conorhinus*, 21 hóras apoz ter sugado animal infetado.
Fig. 23. Fórmas de cultura em meio NOVY-MC. NEAL.
Fig. 23a-24. Primeiras modificações do *Schizotrypanum* nas culturas artificiais.
Fig. 25-29. Esquizogonia no pulmão:
Fig. 25. Merozoitos machos.
Fig. 26. Merozoitos femeos.

TAFEL 13

Schizotrypanum cruzi. Die Präparate sind feucht mit Sublimatalkohol (SCHAUDINN) fixiert und mit Eisenhämatoxylin (nach ROSENBUSCH) gefärbt. Comp. oc. 18. Obj. Oelimm. 2 mm. Apert. 1.30.

Fig. 1. *Schizotrypanum* im Blute von *Callithrix*. Teilung des Caryosoms. Struktur des Blepharoplasts.
Fig. 2-4. Item. Männliche Formen.
Fig. 5-8. Weibliche Formen im Blute des Meerschweinchens in Kernteilung.
Fig. 9, 11, 12. Formen aus dem Mitteldarme des *Conorhinus*. Bildung der Geissel.
Fig. 10. Item. Endstadium der Mitose des Nucleus und Blepharoplasten.
Fig. 13-20. Formen aus dem Enddarme des *Conorhinus*. Kernstruktur des Blepharoplasten. Centriol. Basalkörperchen.
Fig. 21-22 — Formen aus dem Mitteldarme der *Conorhinus*larve, 21 Stunden nach Aufnahme von Blut eines inficierten Tieres.
Fig. 23. Formen aus Kulturen nach NOVY und MC-NEAL.
Fig. 23-24. Erste Veränderungen des *Schizotrypanum* in den Kulturen.
Fig. 25-29. Schizogonie. (Lunge):
Fig. 25. Männliche Merozoiten.
Fig. 26. Weibliche Merozoiten.


MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO I - 1909
ESTAMPA 13
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
23 a
23 b
23 c
24
25
26
27
28
29
CASTRO SILVA
ad. nat. del.

TOMO II FACICULO II

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RIO DE JANEIRO – MANGUINHOS

1910

Formação de raça do hematozoario do impaludismo rezistente á quinina

PELO
Dr. Arthur Neiva,
Assistente.

Ueber die Bildung einer chininresistenten Rasse des Malariaparasiten

VON
Dr. Arthur Neiva,
Assistenten am Institute.

Raras vezes terá havido ocazião de se observar cuidadozamente em material humano tão abundante e, em condições correspondentes quazi ás de uma pesquiza de laboratorio, como a que nos levou a fazer esta comunicação. Assim é, que, durante 11 mezes, em localidade eminencialmente palustre ligada por estrada de ferro á cidade do Rio de Janeiro, onde essa molestia raras vezes se manifesta, observámos durante o espaço de 20 mezes a media mensal de 3.000 operarios, que por aí passâram, vindo quazi todos desta cidade e aí permaneceram mais ou menos tempo. Desses individuos, era uma parte submetida obrigatoriamente ao uzo da quinina.

Do que foi observado, e que abaixo descrevemos mais detidamente, reléva o seguinte:

1. *As dozes de quinina e a frequencia da sua administração, que a principio eram suficientes para combater o impaludismo, tornam-se mais tarde insuficientes, de modo a ser indispensavel aumental-as para atinjir o mesmo fim.*

Nur selten bietet sich die Gelegenheit, an einem so reichen Krankenmaterial und unter Bedingungen, welche denjenigen eines Laboratoriumsversuches ähnlich sind, genaue Beobachtungen anzustellen, wie es mir in dem Falle möglich war, welcher der vorliegenden Mitteilung zu Grunde liegt. Es konnte nämlich innerhalb eines Zeitraumes von 20 Monaten an einem ausgesprochenen Malariaheerde, welcher mit Rio de Janeiro, wo die Krankheit nur selten vorkömmt, in Einsenbahnverbindung steht, ein monatlicher Durchschnitt von 3000 Arbeitern beobachtet werden, die sich einige Zeit daselbst aufhielten; sie kamen fast alle von Rio, wo sie kürzere oder längere Zeit gewohnt hatten. Ein Teil dieser Leute wurde einer obligatorischen Chininbehandlung unterworfen.

Aus meinen Beobachtungen, die ich weiter unten genauer beschreibe, lässt sich Folgendes deutlich erkennen:

1. *Die Grösse der Dosen und die Häufigkeit ihrer Darreichung, welche Anfangs zur Bekämpfung der Malaria hinreichten, erwiesen sich später als unzulänglich, so dass zur Erreichung desselben Zweckes eine Erhöhung derselben nötig wurde.*

2. *Os individuos que, graças á quinização regular, permaneciam nessa localidade sem ter um só acesso de impaludismo, contraiam-no ao voltar para a cidade livre da malaria, quando julgavam poder cessar o uso da quinina. (Entre outros cazos, o nosso).*
3. *As dozes de quinina que a principio eram eficazes como meio terapeutico, tornaram-se incapazes, mais tarde, de produzir o mesmo efeito.*

Em Janeiro de 1907, foram iniciados sob a direção do Dr. Sampaio Corrêa trabalhos em zonas do Estado do Rio de Janeiro denominadas Xerém e Mantiquira, com o fim de utilizar e transportar as aguas dos rios destes nomes, para o abastecimento da cidade do Rio de Janeiro. Estas zonas que distam da cidade 60 qm., são accessiveis em 3 horas de estrada de ferro.

A epoca da exacerbação epidemica começa em Outubro, atinje o auje em Janeiro e Fevereiro, e em Maio está em pleno declinio.

A temperatura de Dezembro a Março é reprezentada por uma media mensal que varia de 23° a 24° C..

Sendo uma localidade essencialmente pantanoza e, não havendo na exploração da Estrada de Ferro, serviço de profilaxia conveniente, os trabalhos anteriormente executados eram interrompidos nos mezes epidemicos, adoecendo de malaria 96 % dos individuos empregados nesse serviço, sendo muito elevada a mortalidade.

Mais tarde, foi então iniciado com intensidade, o serviço da captação das aguas, e o nosso Instituto, encarregado do serviço da campanha antipaludica, tendo sido o Dr. Chagas e nós em Fevereiro de 1907 dezignados para dar começo a esse serviço.

A zona sob nossa fiscalização, era reprezentada por uma faixa de terreno desde

2. *Die Leute, welche in Folge regelmässigen Chiningebrauches an Ort und Stelle frei von Malariaanfällen blieben, bekamen solche nach ihrer Rückkehr in die malariafreie Stadt, wenn sie glaubten, mit dem Chiningebrauche aufhören zu können, wie ich an mir selbst beobachtete.*
3. *Die zu Anfang therapeutisch wirksamen Dosen waren später nicht im Stande, dieselbe Wirkung zu erzielen.*

Im Januar 1907 wurden unter Leitung von Dr. Sampaio Corrêa mit Arbeiten für die Wasserversorgung von Rio de Janeiro begonnen, durch welche das Wasser der Flüsse Xerém und Mantiquira in den gleichnamigen Zonen des Staates Rio de Janeiro gefasst und hingeleitet wurde. Diese von der Hauptstadt 60 Kilometer entfernten Gegenden sind in dreistündiger Eisenbahnfahrt zu erreichen.

Die Krankheit beginnt im Oktober epidemisch aufzutreten, erreicht ihren Höhepunkt im Januar und Februar und ist im Mai in entschiedener Abnahme begriffen.

Von Dezember bis März beträgt die monatliche Durchschnittstemperatur 23 bis 24°.

Da die Gegend äusserst sumpfig ist und bei den Vorarbeiten für den Eisenbahnbau keine zweckmässige Prophylaxe stattfand, wurde damals die Tätigkeit während der Epidemiemonate eingestellt, indem von den Leuten 96% erkrankten und die Mortalität sehr bedeutend war.

Als später die Arbeiten für die Fassung energisch in Angriff genommen wurden, beauftragte man das Institut mit der Malariabekämpfung, wobei Dr. Chagas und ich mit der Einleitung derselben beauftragt wurden.

Die von mir beaufsichtigte Zone war ein Streifen Landes, der von der Ortschaft Pavuna an die Stadt Rio grenzt, welche sich einerseits nach der Fazenda Galrão

a localidade Pavuna, zona limitrofe com a cidade do Rio de Janeiro, até a fazenda do Galrão por um lado, e, por outro, compreendia os trabalhos de colocação de encanamentos e construção da estrada de ferro, que se efetuavam nos rios Rejistro, João Pinto e Xérem, o que dava a extensão de 70 qm. aproximadamente.

Muitos pontos eram completamente alagados e de tal modo que os operarios, trabalhavam mergulhados na agua até á cintura. A duração do trabalho era no minimo de 11 horas, havendo ainda os serões de 12 horas, divididos em 2 turmas; geralmente, os operarios executavam o trabalho do dia e mais $^1/_4$ de serão, isto é, um total de 14 horas de trabalho penozissimo.

Os operarios dormiam em ranchos cobertos de sapê sem a menor proteção mecanica, em numero que a principio de 350 apenas, atinjiu a perto de 4.000 operarios em trabalho quotidiano.

Nas condições referidas, só pareceu indicada a profilaxia quinica, contra a qual, porem, findo algum tempo, se rebelaram os trabalhadores, já por natural ignorancia, já por pertencerem á uma classe infima composta de elementos heterojenios, oriundos de todos os paizes, indiciplinados por índole e que só aí se juntaram por falta de trabalho em outra parte.

Como medida de coerção, só era possivel demitir áquelles que se não queriam submetter ás nossas prescrições. A distribuição da quinina era feita por auxiliares de toda a confiança, que observavam cada individuo até a deglutição da doze da quinina, e consequente verificação de que a capsula não tinha sido empalmada, atirada dentro da roupa ou escondida debaixo da lingua, para ser em seguida deitada fóra.

Logo que se observava uma infração, se o operario se obstinava em recuzar a capsula, era o infrator *in-continenti* despedido.

Este trabalho embora penozissimo foi feito com todo o rigor devido á dedicação

erstreckte und andererseits die Arbeiten für die Legung der Leitung und den Bau der Eisenbahn an den Flüsschen REGISTRO, JOÃO PINTO und XERÉM begleitete, deren Ausdehnung ungefähr 70 Kilometer betrug.

Viele Strecken waren vollständig überschwemmt, so dass die Arbeiter bis zum Gürtel im Wasser arbeiten mussten Die Arbeitszeit betrug im Minimum 11 Stunden; dazu kam noch eine, in zwei Abteilungen geteilte, zwölfstündige Nachtarbeit. Gewöhnlich leisteten die Leute die Tages- und den Viertel einer Nachtarbeit, das heisst im Ganzen vierzehn Stunden angestrengtester Tätigkeit.

Die Arbeiter schliefen in mit Gras gedeckten, offenen Schuppen, ohne weiteren Schutz; ihre Anzahl betrug anfangs kaum 350, erreichte aber später nahezu 4000 bei täglicher Arbeit.

Unter den geschilderten Verhältnissen schien nur die Chininprophylaxis am Platze; doch lehnten sich die Arbeiter nach einiger Zeit gegen dieselbe auf, teils aus natürlicher Unwissenheit, teils weil es sich um eine Ansammlung heterogenster Elemente aus aller Herren Ländern handelte, welche zur niedrigsten Klasse gehörten und ihrer Natur nach indiscipliniert waren, wie sie sich auch nur aus Mangel an anderer Arbeit hier vereinigt hatten.

Als Zwangsmassregel konnte nur die Entlassung derjenigen, welche sich nicht meinen Vorschriften fügten, zur Anwendung kommen. Die Verteilung des Chinins fand durch zuverlässige Gehülfen statt, welche sich überzeugten, dass das Chinin verschluckt und nicht in der Hand, in der Kleidung oder unter der Zunge verborgen wurde, um dann später weggeworfen zu werden. Zuwiderhandelnde, welche die Kapsel hartnäckig zurückwiesen, wurden sofort entlassen.

Dieser anstrengende Dienst wurde Dank der Hingebung meiner Gehülfen und besonders von DR. RUY LADISLÁU pünktlich ausgeführt und gestattete daher, meine Schlüsse nicht auf blosse Vermutungen, sondern auf sicher beobachtete Tatsachen zu gründen.

— 134 —

dos nossos auxiliares e principalmente do Dr. Ruy Ladisláu, permitindo assim, que, as nossas deduções se não bazeiem em supozições, mas, em fatos bem observados.

Alem dos operarios, existiam as familias de muitos delles que os acompanhavam e com as quais nada se podia fazer, pois que se recuzavam a tomar a quinina.

Assim, tinhamos no mesmo lugar, duas sortes de individuos em condições opostas, uns quinizados e outros não quinizados.

De Fevereiro a meiados do mez de Agosto, a profilaxia feita, administrando-se 50 centigramas de cloridrato de quinina de Merck de 3 em 3 dias, deu os melhores rezultados, conforme se vê no trabalho do Dr. Chagas (*Zeitschr. f. Hygiene* S. 321—334) (1908).

Em fins de Agosto, continuando baixo o numero de cazos de impaludismo, começámos a observar numero relativamente grande de cazos de primeira infeção, para os quais, havia certeza de não terem escapado á profilaxia em vigor e, que a principio, explicavamos por uma maior receptividade individual. Até este momento, os cazos de impaludismo eram fornecidos por individuos, que haviam transgredido ás nossas determinações.

Em Setembro, o mesmo fenomeno nos chamava a atenção, principalmente, pelo bom exito em geral do serviço profilatico, visto como aumentava o numero de operarios que então atinjia a 3.520, sendo a cifra de morbilidade reprezentada por 0,59 % ao passo que, nas familias destes, que tambem muito tinham aumentado e que se não submetiam ás medidas profilaticas, o numero de cazos de impaludismo era extraordinariamente grande e crecia sempre.

Assim, tinhamos diante de nós duas populações oferecendo perfeito contraste; de uma parte, pessoas afanando-se em trabalhos exaustivos e em magnificas condições

Ausser den Arbeitern gab es noch die Familien, von welchen viele derselben begleitet wurden; doch konnt man mit denselben nichts anfangen, da sie sich weigerten, Chinin zu nehmen.

Es gab daher am selben Orte zwei entgegengesetzte Klassen von Leuten, die teils von Chinin beeinflusst waren, teils nicht.

Vom Februar bis zur Mitte August gab die angewandte Prophylaxis (ein halbes Gramm salzsaures Chinin von Merck alle drei Tage) die besten Resultate, wie aus der Arbeit von Dr. Chagas (*Zeitschr. f. Hygiene* 1908, S. 312-334) hervorgeht.

Von Ende August an fanden sich bei einer niedrigen Gesammtzahl von Malariafällen relativ häufige Fälle primärer Infektion, trotzdem dieselben sich der üblichen Prophylaxe sicher nicht entzogen hatten, was ich Anfangs auf eine grössere individuelle Empfindlichkeit zurückführte. Bisdahin war die Malaria nur bei Leuten aufgetreten, welche den Anweisungen zuwidergehandelt hatten.

Im September fuhr diese Erscheinung fort, meine Aufmerksamkeit auf sich zu ziehen, besonders im Gegensatz zu dem guten Allgemeinresultat der Prophylaxis bei zunehmender Zahl der Arbeiter, die bereits 3.520 betrug (bei einer Mortalität von 0,59%), während innerhalb der Familien, deren Zahl ebenfalls sehr zugenommen hatte und welche sich den prophylaktischen Massnahmen nicht fügten, die Zahl von Malariafällen ausserordentlich gross und in stetem Zunehmen war.

So hatte ich vor mir zwei Klassen von Leuten, die einen vollständigen Kontrast boten; einerseits solche, die bei aufreibender Arbeit einen ausgezeichneten Gesundheitszustand zeigten; andererseits eine geringere Zahl von Frauen, Kindern, Kaufleuten und Fremden, welche vollständig von Malaria durchseucht waren.

Die Kranheitsfälle unter den in Chininbehandlung stehenden Arbeitern kamen ebensowohl an meinem Wohnorte, wie an verschiedenen anderen Plätzen zur Beobachtung.

— 135 —

de saude, de outra, população pouco menos numeroza e que era constituida por mulheres, crianças, negociantes, e forasteiros, totalmente atacados de impaludismo.

A morbilidade entre os operarios quinizados, era observada, não só no local, onde rezidiamos, como em varios outros.

Por essa epoca, chamou-nos tambem a atenção, o fato de operarios perfeitamente quinizados e que nunca tinham tido acessos no Xerém, indo ao Rio de Janeiro e permanecendo aí alguns dias sem tomar quinina, serem acometidos de febre palustre. Deste mez em diante, estes fatos começaram a se tornar de tal modo frequentes que afastavam qualquer duvida.

No mez de Outubro, rezolvemos modificar a quinização, estreitando mais o prazo, administrando-se daí por diante, 50 centigramas de 2 em 2 dias. Esta medida já estava sendo empregada com vantajem desde o mez anterior, entre os trabalhadores que construiam a Ponte de Iguassú, fóco dos mais perigozos, e onde os trabalhos se executavam dia e noite, trabalhando os operarios dentro d'agua.

Esta modificação trouxe uma melhoria geral, cessando os cazos de 1.ª infeção nas localidades, que seguiam a risca a quinização mais intensa. Isto, porem, de modo algum, modificou a frequencia cada vez maior, do fato que acima assinalámos, isto é, do adoecimento de individuos que passavam alguns dias no Rio de Janeiro sem o uzo da quinina.

De maneira que, uma situação absolutamente imprevista, se estava estabelecendo entre os trabalhadores e, era constituida, por esses individuos que, de volta do Rio de Janeiro, formavam elementos perigozos para o rancho onde habitavam, não só por estarem infetados, como principalmente, por serem estes, portadores de parazitos que, durante tempo mais ou menos longo, haviam sofrido a ação constante da quinina.

Zur selben Zeit wurde ich auf die Tatsache aufmerksam, dass Arbeiter, welche vorschriftsmässig Chinin gebraucht und in Xerém niemals Anfälle gehabt hatten, wenn sie nach Rio gingen und einige Tage daselbst verbrachten, ohne Chinin einzunehmen, von Malaria befallen wurden. Von diesem Monate an wiederholten sich solche Fälle so häufig, dass über die Tatsache kein Zweifel mehr bestehen konnte.

Im Oktober beschloss ich eine Modification der Chininbehandlung durch Verminderung der Intervalle, indem von da an alle zwei Tage 50 Centigramm gegeben wurden. Diese Massregel war schon seit dem vorigen Monate mit gutem Erfolge bei den Arbeitern angewandt worden, welche die Brücke über den Iguassú bauten; es handelte sich daselbst um einen der gefährlichsten Heerde, wo die Arbeiter Tag und Nachts im Wasser arbeiteten.

Diese Abänderung war von einer allgemeinen Besserung gefolgt, indem die primären Erkrankungen an den Orten aufhörten, wo die intensivere Behandlung genau befolgt wurde. Dagegen wurden die immer häufigeren Fälle der Erkrankung von Leuten, welche einige Tage in Rio ohne Chiningebrauch verlebten, davon nicht berührt.

So entwickelte sich unter den Arbeitern eine gänzlich unerwartete Sachlage durch die Gegenwart von aus Rio zurückgekehrten Leuten, welche für ihre Umgebung gefährliche Elemente darstellten, weil sie nicht bloss infiziert, sondern auch Träger von Parasiten waren, welche während kürzerer oder längerer Zeit beständig der Chininein wirkung unterworfen waren und an welche sie sich trotz behinderter Vermehrung gewöhnt haben konnten.

Mitte November begannen Malariaanfälle bei Leuten aufzutreten, welche alle zwei Tage Chinin genommen hatten und da dies sich wiederholte, beschloss ich täglich ein halbes Gramm zu geben, worauf die Anfälle ganz aufhörten, während am selben Orte die Malaria alle Leute befiel, welche kleinere Dosen nahmen.

— 136 —

que os tinha impedido de se multiplicarem e á qual se poderiam ter habituado.

Em meiados de Novembro, começaram a aparecer cazos de acessos palustres, em individuos quinizados de 2 em 2 dias e, como isto se repetisse, rezolvemos administrar 50 centigrammas, diariamente, o que fez cessar por completo os ataques de malaria; entretanto, nesta rejião, o impaludismo atacava quem quer que fosse que se submetesse a dozes menores.

A quinização diaria só poude ser feita com rigor em um local: o quilometro 54 que se achava sob as nossas vistas imediatas, e com os trabalhadores submetidos a este rejimen, ainda se observava do mesmo modo, o fenomeno do adoecimento quando iam ao Rio, embora tomassem quinina, pessoalmente por nós distribuida ainda no dia da partida. Este fato foi tambem observado com toda a evidencia, entre os medicos que adoeceram ao voltar ao Rio de Janeiro, apezar de um delles ter tido a cautela de continuar sob o mesmo rejimen durante 12 dias apoz a saida do Xerém; comtudo, 9 dias depois de ter cessado o emprego da quinina, foi acometido de impaludismo.

Uma unica dedução se impunha como concluzão aos fatos que vimos aduzindo: os hematozoarios do impaludismo tinham adquirido uma rezistencia especial á quinina.

Ao começar a profilaxia, o numero de infetados era grande; e iniciada a quinização, facilmente se debelou o parazito entre a população operaria. Com o correr do tempo e com a chegada das familias dos trabalhadores que se iam infetando aos poucos, porquanto não estavam submetidas á quinização, as anofelinas transmissoras, alimentando-se, ora nos habitantes que reprezentavam os depozitarios de virus, ou nos recemchegados não quinizados ou ainda, nos operarios quinizados de 3 em 3 dias, e que por isso possuiam o sangue em variavel gráo de riqueza quinica, dependente das horas decorridas da injestão do alcaloide, criaram para os hematozoarios, uma oportu-

Die tägliche Chinindarreichung konnte nur an einem Orte streng durchgeführt werden, der sich unter meiner direkten Aufsicht befand, nämlich bei Kilometer 54; bei den dieser Behandlung unterworfenen Arbeitern beobachtete man auch weiterhin die Erscheinung, dass dieselben erkrankten, wenn sie nach Rio gingen, obwohl sie noch am Tage ihrer Abreise, von mir persönlich verabreichtes, Chinin genommen hatten. Dasselbe wurde auch sehr deutlich bei den Aerzten beobachtet, welche nach ihrer Rückkehr nach Rio erkrankten, obgleich einer derselben ich selbst die Vorsicht hatte, nach dem Verlassen von Xerém noch 12 Tage dieselbe Behandlung fortzusetzen; trotzdem wurde derselbe neun Tage nach Einstellen des Chininggebrauches von Malaria befallen.

Aus den geschilderten Tatsachen lässt sich nur ein Schluss ziehen: die Hämatozoen der Malaria hatten eine besondere Resistenz gegen Chinin erworben.

Zu Beginn der Prophylaxe war die Anzahl der Inficierten gross, doch liessen sich die Parasiten bei der Arbeiterbevölkerung durch die eingeleitete Chininbehandlung leicht bekämpfen. Im weiteren Verlaufe und in Folge der Ankunft der Arbeiterfamilien, welche sich nach und nach inficierten, da sie kein Chinin nahmen, nährten sich die übertragenden Anophelinen bald vom Blute der Einwohner, welche die ursprüngliche Quelle der Parasiten bildeten, bald an frisch angekommenen, welche noch kein Chinin genommen hatten, bald an Arbeitern, welche alle drei Tage Chinin nahmen und deren Blut dasselbe je nach der seit der Einnahme verstrichenen Zeit in wechselnder Menge enthielt; auf diese Weise bot sich für die Hämatozoen eine Gelegenheit zur Anpassung, welche ihnen schliesslich eine Resistenzfähigkeit verlieh, die es ihnen ermöglichte, im Lauf der Generationen auffallend chininresistente Rassen zu bilden.

Im Januar 1908 erreichte die Arbeiterzahl 4000 und die Leute nahmen an einigen Tagen täglich, an anderen nur alle zwei Tage Chinin ein. An einigen

nidade de adaptação, que terminou por lhes dar a rezistencia que os capacitou, atravez das suas gerações, a se diferenciar claramente em raças rezistentes á quinina.

Em Janeiro de 1908, o numero de operarios elevava-se a 4.000 homens que eram quinizados, em alguns logares, diariamente, em outros de 2 em 2 dias; em algumas localidades nunca conseguimos, por varios motivos, uma organização regular, que permitisse segura quinização.

Assim, por esta epoca, para algumas *ranchações* que abrigavam de 80 a 140 homens, 8 a 10 % dos seus moradores tinham se tornado gametoforos, e, como a quinização era em igual doze para estes e para os não infetados, os transmissores, que sanguesugassem um gametoforo, sempre que repetissem as refeições, encontravam prezente no sangue uma quantidade de alcaloide mais ou menos igual para todos os operarios. Deste modo, passando de gametos acostumados a viver em meio onde a quinina estava sempre prezente, os hematozoarios, continuavam já em outro ciclo, de ooquineto até á refeição final que lançasse o esporozoito na circulação, a se dezenvolver ainda na prezença da quinina.

E foi assim que, com o tempo, passando dos depozitarios de virus para as familias dos operarios, destas para os trabalhadores quinizados insuficientemente de 3 em 3 dias, aos poucos, se foi formando uma raça de parazitos de crecente rezistencia ao alcaloide, circumstancia, que nos obrigou a estreitar a distribuição para cada 2 dias em logares onde, mezes antes, a quinização mais espaçada era perfeitamente suficiente.

Estes fatos não se observavam em todas as localidades, onde se executava a profilaxia, porem, em logares já dezignados acrecidos do local quilometro 43, onde se formou uma raça altamente rezistente. Aos individuos que aí trabalhavam, quando se infetavam tornava-se necessario aumentar a doze terapeutica e, apezar disto, permane-

Plätzen wurde aus verschiedenen Gründen niemals eine geordnete Organisation erzielt, welche einen regelmässigen Chiningebrauch gestattet hätte.

Zu dieser Zeit waren in einigen Niederlassungen von 80 bis 140 Leuten 8 bis 10% der Einwohner zu Gametenträgern geworden und, da sie dieselben Chinindosen nahmen, wie die uninficierten, so fanden die übertragenden Mücken, nachdem sie an einem Gametenträger gesogen hatten, bei jeder neuen Aufnahme von Blut, in demselben das Alcaloid und zwar in einer Proportion, welche bei allen Arbeitern annähernd dieselbe war. Demgemäss begannen die Parasiten als Gameten, welche an ein beständig Chinin enthaltendes Medium gewöhnt waren und machten den nächsten Entwicklungscyclus vom Ookineten bis zur Uebertragung der Sporozoiten durch die Mücke auf den Menschen beständig unter dem Einflusse des Chinins durch.

Auf diese Weise bildete sich eine Parasitenrasse von immer grösserer Chininresistenz aus, indem sie von den ursprünglichen Krankheitsträgern auf die Familien der Arbeiter und von diesen auf die nicht genügend — nämlich nur alle drei Tage — mit Chinin behandelten Arbeiter überging; dieser Umstand zwang mich das Intervall der Chinindosen auf zwei Tage herabzusetzen, während einige Monate vorher am selben Orte eine weniger häufige Darreichung völlig genügte.

Diese Verhältnisse wurden nicht an allen Orten beobachtet, wo eine Prophylaxe stattfand, sondern nur an den bereits bezeichneten Stellen und ausserdem bei Kilometer 43, wo sich eine sehr chininresistente Rasse ausbildete. Bei den daselbst arbeitenden Leuten musste bei stattgefundener Erkrankung die therapeutische Dose erhöht werden und trotzdem zeigten sie ein grösseres Mittel von Krankheitstagen, als die Malariakranken von anderen Stellen.

Im Januar beobachtete ich, dass einer von den Aerzten, Dr. Ruy Ladisláu, der seit Juni täglich 50 Centigramm einnahm,

ciam doentes maior numero de dias que os impaludados das outras localidades.

Em Janeiro, vimos um dos medicos, o Dr. Ruy Ladisláu, que se quinizava desde Junho, com 50 centigramas diarios, interromper por 2 dias esta observancia, recomeçando findo este prazo a se quinizar nas mesmas dozes, e logo ser acometido de violento acesso de terçã maligna. Tinhamos conhecimentos de fatos mais ou menos analogos, porem, por não o podermos asseverar seguramente, temiamos errar, tomando-os em consideração. Finalmente, não havia mais motivos para duvida. Os fatos izolados, a principio sorpreendentes, foram-se acumulando.

Em certos logares, devido ao conjunto de circumstancias já referidas, a unica quinização que ainda lograva dar rezultados, era *a de 50 centigramas tomados sem excepção de um só dia.*

Com estas dozes diarias nunca observámos irromper acessos; mas o que verificâmos e afirmamos é que varios *individuos quinizados diariamente alguns, nos primeiros mezes com 30 centigramas e depois com 50 centigramas durante o espaço de 8 mezes a mais de um ano e um delles com 11 mezes de quinização diaria a 50 centigramas, não tendo havido sequer uma falta* (nosso cazo), *ao abandonarem definitivamente a rejião e o uzo do profilatico, depois de 9 a mais de 30 dias foram acometidos de impaludismo.* Houve numerozos cazos de individuos, que, quinizados diariamente *com 30 centigramas,* máo grado esta doze, se infetaram; mais raros os que em uzo diario de 50 centigramas, interrompendo por um a dois dias somente o emprego da quinina foram prezas da malaria.

O que avultou e complicou de muito a profilaxia foi o numero de pessoas quinizadas intensamente durante mezes sucessivos que, ao se afastar temporariamente dos fócos onde a malaria reinava intensa, ao deixar o medicamento se surpreendiam com impaludismo.

nachdem er einmal während zwei Tagen ausgesetzt hatte, obwohl er nachher der Chiningebrauch in derselben Dose wieder aufnahm, einen heftigen Anfall von Tertiana maligna durchmachte. Aehnliche Fälle waren mir bereits bekannt, doch scheute ich mich, in Hinsicht auf eine weniger zuverlässige Beobachtung, Schlüsse daraus zu ziehen. Doch blieb schliesslich kein Grund zum Zweifel mehr, da die anfangs vereinzelten und überraschenden Fälle sich häuften.

In Folge der auseinandergesetzten Verhältnisse liess sich an gewissen Orten nur durch *tägliche, auch nicht einmal unterbrochene Einnahme von 0,5 Chinin* ein Resultat erzielen.

Bei dieser täglichen Dosis beobachtete ich niemals das Auftreten von Anfällen; wohl aber stellte ich bestimmt fest, dass verschiedene Leute nach definitem Verlassen der Gegend und Aufgeben der prophylaktischen Dosen, nach einem Zeitraume von 9 bis 30 Tagen von Malária befallen wurden, obgleich sie vorher täglich Chinin genommen hatten. Mehrere derselben nahmen in den ersten Monaten 0,3 und nachher, während acht Monaten bis zu mehr als einem Jahre, 0,5 Gramm, während ich selbst erkrankte, obgleich ich während 11 Monaten, ohne eine Ausnahme, täglich ein halbes Gramm einnahm. Es gab zahlreiche Fälle von Leuten, welche trotz täglichem Gebrauche von 30 Centigramm sich inficierten und seltenere, die bei einer Tagesdose von 0,5 nach ein- bis zweitägigem Aussetzen an Malaria erkrankten.

Was besonders hervortrat und die Prophylaxe erschwerte, war die Anzahl von Leuten, welche während einer Anzahl von Monaten ununterbrochen Chinin genommen hatten und, nach Verlassen der intensiven Malariaheerde und Aussetzen des Medicamentes, von Malaria überrascht wurden.

So wurde uns klar, dass in gewissen Arbeitergruppen, die Plasmodien sich, sowohl beim Menschen, wie bei den übertragenden Stechmücken, immer in einem chininhaltigen Medium befanden und in

— 139 —

Para nós ficou patenteado, que, em certos nucleos de operarios, os plasmodios se cultivavam quer nos homens, quer nos transmissores, sempre num meio quinizado e, devido a esta circumstancia, formaram-se raças rezistentes á quinina.

Os fatos acima apontados não condenam a profilaxia quinica, em trabalhos da natureza dos que a Inspetoria Geral de Obras Publicas levou a cabo.

As raças rezistentes não se formaram simultaneamente em toda a zona submetida á quinização; mas somente nos nucleos de população, onde concomitantemente existiam os já referidos fatores eficientes da rezistencia.

No quilomero 54 onde estes fatos eram mais constantes e onde a profilaxia existia ha mais tempo, por isso mesmo, tinhamos a raça mais rezistente; para esta localidade, já havia uma raça que *evolvia dando acessos, em individuos quinizados diariamente a 30 centigramas.* Aí a quinização de 2 em 2 dias a 50 centigramas já era insuficiente para prevenir, a interrupção de 2 dias num individuo quinizado a 50 centigramas, embora recomeçasse o uzo do alcaloide findo este prazo, já era incapaz de impedir o acesso, que se dava 2 ou 3 dias apoz se ter recomeçado a injerir os 50 centigramas.

Foi entre os trabalhadores rezidentes neste quilometro que, com segurança, pudemos afirmar que apezar de serem quinizados diariamente nas dozes de 50 centigramas, operarios até então imunes, depois de permanencia de 4 mezes a mais, máo grado termos tomado a precaução de não excetual-os da quinização, nem no dia da partida, verificámos o impaludismo acometer a muitos delles quando, já na cidade do Rio de Janeiro, algum tempo depois de terem abandonado o uzo da quinina.

Até na enfermaria, observámos que os doentes das zonas citadas, ofereciam maior rezistencia ao especifico, principalmente os do quilometro 54 e 47, havendo necessidade

Folge dessen chininresistente Rassen gebildet wurden.

Die angeführten Tatsachen sprechen nicht gegen die Chininprophylaxe bei derartigen Arbeiten, wie sie die Aufsichtsbehörde der öffentlichen Arbeiten zu Ende führte.

Die chininresistenten Rassen bildeten sich nicht gleichzeitig in der ganzen dem Chiningebrauche unterworfenen Zone, sondern nur in denjenigen Gruppen, wo zugleich die bereits erwähnten Bedingungen für die Erhöhung des Widerstandes zur Geltung kamen.

Bei Kilometer 54, wo diese Verhältnisse am beständigsten waren und wo die Prophylaxe am frühesten begonnen hatte, hatten wir deswegen auch die widerstandsfähigste Rasse, die *selbst bei Individuen, die täglich 30 Centigramm nahmen, sich entwickelte und Anfälle hervorrief.* Hier war es für die Vorbeugung bereits ungenügend, alle zwei Tage Chinin zu geben und wenn bei Leuten, die ein halbes Gramm einnahmen, eine Unterbrechung von zwei Tagen stattfand, so war die Wiederaufnahme der Chininbehandlung nicht mehr im Stande dem Anfalle vorzubeugen, welcher dann zwei bis drei Tage nach derselben stattfand.

Bei den hier lebenden Arbeitern konnten wir mit Sicherheit beobachten, dass auch bisher uninficierte, welche täglich ein halbes Gramm Chinin eingenommen hatte und sich vier Monate an Ort und Stelle aufhielten und trotzdem ich die Vorsicht gebraucht hatte, auch am Tage ihrer Abreise den Chiningebrauch nicht zu unterbrechen, zum grossen Teile bereits in Rio einige Zeit nach Aussetzen des Chinins von Malaria befallen wurden.

Selbst im Spitale beobachteten wir, dass die Patienten aus den befallenen Zonen der specifischen Behandlung mehr Widerstand entgegensetzten und zwar ganz besonders die von Kilometer 54 und 47, so dass man grössere Dosen anwenden musste, als beim Durchschnitte der Patienten von anderer Herkunft.

— 140 —

de empregarmos maiores dozes que as do geral dos doentes de outras proveniencias.

Das nossas verificações concluimos que a quinização constante entre populações impaludadas, quando não atinjir de uma só vez á massa total de habitantes, acabará por dar aos hematozoarios os meios de ir adquirindo uma rezistencia ao especifico a ponto de se diferenciarem em raças.

Aus meinen Erhebungen schliesse ich, dass eine fortgesetzte Chininbehandlung bei malariainficierten Bevölkerungen, falls sie nicht auf einmal die gesammten Einwohner betrifft, schliesslich den Hämatozoen die Mittel liefert, nach und nach eine solche Resistenz gegen das specifische Heilmittel zu erwerben, dass sie zur Bildung einer unterschiedlichen Rasse führt.

ANNO II S. PAULO — JUNHO DE 1914 VOL. II — N.º 6

Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia

ASSIGNATURAS: 15$000 por anno
= NUMERO AVULSO 1$500 =
PUBLICAÇÃO MENSAL

Redacção e Administração:
RUA JOSÉ BONIFACIO N. 40 (sb.)
S. PAULO — BRASIL

Sobre o tratamento da leishmaniose tegumentar

PELO

DR. GASPAR VIANNA

(Do Instituto Oswaldo Cruz — Manguinhos — Rio de Janeiro)

As investigações que vimos fazendo sobre o tratamento da leishmaniose tegumentar já nos permittem firmar opinião sobre alguns dos processos até agora aconselhados e o por nós seguido, dado o numero de casos observados.

Os primitivos methodos de exerese, raspagens, cauterizações locaes com nitrato de prata, acidos, fogo, etc., condemnaveis em todos pontos de vista, são ainda, infelizmente, empregados por modernos pesquisadores.

Destes processos, que na expressão feliz de Oscar d'Utra (1) constituem a therapia inquisitorial, nada diremos, pois não julgamos cabivel sua applicação em caso algum da molestia e devem ser completamente despresados como barbaros e maleficos.

Cada vez mais os factos nos vão mostrando que as lesões leishmaniosicas só podem ser vantajosamente combatidas com medicamentos que actuem por via circulatoria.

Se attentarmos nas lesões mucosas, cuja propagação pode attingir grandes distancias, já tendo se conseguido evidencial-a na parte mediana da trachéa, concluiremos que só pela via circulatoria poderemos combater a molestia.

O estudo histo-pathologico das modalidades desta protozoose nos vem cada vez mais trazer provas de que o processo morbido attinge tecidos muito profundamente collocados e difficeis, sinão impossiveis de serem alcançados com tratamentos locaes.

Sabido como é ser o causador da molestia um protozoario, é racional que se investigue nella a acção curativa de medicamentos provados activos em germens do grupo.

Os medicamentos propostos por Ehrlich para o tratamento das treponemoses, activos até certo ponto em trypanosomoses, tentou a todos que de leishmaniose se tem occupado entre nós e no extrangeiro, a empregal-os esperançados da cura.

(1) Tratamento da leishmaniose tegumentar. (These, Rio de Janeiro.)

Se no estrangeiro a cura é a regra geral, entre nós é a excepção. Em casos de lesões unicamente mucosas e de mucosas e cutaneas empregamos o 606 e o 914 repetidas vezes sem resultados dignos de registro.

Após os primeiros insuccessos que nos proporcionou o emprego dos preparados de Ehrlich, inquirimos do valor curativo do emetico, dada a sua acção em trypanosomose.

A principio os resultados colhidos não nos permittiam uma conclusão visto a disparidade com que se apresentaram. Emquanto que os doentes de lesões cutaneas eram rapidamente curados, os de mucosas pouco melhoraram no mesmo espaço de tempo.

Deste facto se quiz logo concluir a inefficacia da medicação em formas mucosas e ainda ha bem pouco tempo na Soc. de Medicina e Cirurgia de S. Paulo vimo-nos citado como affirmando esta conclusão.

Nas raras vezes que nos temos occupado, na Soc. B. de Dermatologia, do tratamento da leishmaniose tegumentar, mostramos sempre casos de cura das formas mucosas. Na propria communicação inicial referimos a cura de lesões cutaneas e da mucosa nasal.

Os resultados beneficos do emprego de injecções intravenosas de tartaro emetico na leishmaniose entre nós observada, estão a coberto de interpretações pessoaes pois se baseam em factos perfeita e definitivamente estabelecidos. Se pode ser discutir o seu modo de agir, o mesmo se não dá com a acção que ellas exercem.

Na these de d'Utra e Silva, acima citada, está, de modo preciso e detalhado, o methodo seguido neste tratamento.

A solução usada é de 1gr. em 100 cc. de agua physiologica, esterilizada por filtração e distribuida em ampôllas.

A dose maxima usada de cada vez, para um individuo adulto, é de 1o cc., sendo conveniente iniciar o tratamento com doses menores.

Aos primeiros symptomas incommodativos, taes como dôres articulares, musculares, cephaléa, etc., diminuiamos a dose e espaçavamos as injecções. Nos casos chronicos, que datando de muitos annos, com lesões vastas de mucosas, após um tratamento inicial intenso, mantemos o doente em uso de doses pequenas, repetindo-as de maneira que nenhum incommodo lhe causem.

A medicação por esta forma condusida não acarreta o menor prejuizo. Temol-a usado em creanças de 5 annos e velhos de mais de 60 annos, nada observando que ponha restricções e maiores cuidados no seu emprego. Só em dois casos de nephrite, quando submettidos a doses altas, vimos augmentar-se a albumina e formarem-se edemas.

Em ambos, fazendo interrupções nas applicações ou baixando a dose em nada se aggravou a lesão renal.

Nos casos chronicos, onde a lesão data já de muitos annos, a cura é por vezes lenta, mas possivel; em rarissimos casos, porém, é possivel leval-a á termo por motivos que ainda nos escapam e passiveis de interpretações varias. Até o momento actual não conheço medicação chimiotherapica que esteja exclusa destes inconvenientes.

O iodureto de potassio na esporotricose, certamente uma das mais activas medicações chimiotherapicas, por vezes se escoa sem acção curativa; em outras, apenas consegue melhoras.

Estes casos felizmente raros, são, em geral, de lesões mucosas e até o momento, espera explicação satisfactoria a inercia do iodureto.

Com os dois principaes compostos arsenicaes de Erlich, dado o numero enorme de applicações feitas, pode-se affirmar que muitas manifestações syphiliticas resistem ao seu emprego, mesmo quando repetido por muitas vezes.

O mercurio, o iodureto, e quinina nas suas multiplices applicações mostram de sobejo a veracidade da affirmativa.

A necessidade da repetição das injecções de emetico em nada invalida a sua acção. Com elle se dá o mesmo que com as substancias ditas especificas.

Bermann e Gougerot recommendam continuar o tratamento iodo-iodurado em esporothricose muito tempo depois de desapparecidos os symptomas clinicos.

Com o 606 e o 914 a pratica tem mostrado ser preciso a mesma cautela para não se ter recidiva, dando-se o mesmo com os outros corpos citados, porem em gráo mais alto.

Do que acima ficou dito é logico affirmar que em chimiotherapia não attingimos senão a esterilisante fraccionada e que o emetico em leishmaniose tegumentar, se não está entre os corpos mais activos, está delles muito visinho.

Relatemos algumas observações tiradas do trabalho de d'Utra que em tudo confirmam o que acabamos de dizer.

M. A. R. (obs. 18), portador de 100 ulcerações, datando de tres mezes, localizadas na pelle e nas mucosas bucal, pharingea nasal e palpebral, teve a cicatrisação total das ulceras cutaneas e mucosas com 8 injecções em cerca de 20 dias.

B. P. (obs. 4) com 41 ulcerações, cutaneas e na mucosa da lingua, veo do paladar, uvula e pilares, era um caso bastante grave não só pelo numero e sede das ulceras como tambem pela inflammação do pescoço e hypertrophia dos ganglios desta região. Iniciado o tratamento a 3 de Setembro, a 8 de Outubro era suspenso por estar o individuo curado.

A. L. O. (obs. 6), possuia 22 ulceras cutaneas, mucosas bucco-pharyngéa e naso-pharingéa completamente tomadas pelo processo morbido. Estas lesões datavam de muito tempo, pois ha sete annos que percorria varios hospitaes, tendo tomado 7 injecções de 606, chegando á Santa Casa do Rio muito magro e enfraquecido. Com o emprego do emetico as melhoras foram rapidas e hoje o tenho como meu empregado de laboratorio.

M. F. O. (obs. 8), ulcerado em varios pontos da pelle, tendo todos os tecidos molles do nariz destruidos, lesões na mucosa do labio superior, pharingéa e naso-laringéa, aguarda, curado pelo emetico, uma operação plastica.

Neste doente a medicação foi empregada por longo tempo, cerca de dois mezes.

J. J. P. (obs. 1), infectado ha mais de 5 annos com vasta lesão da mucosa naso-laringéa, destruição das partes molles do nariz, grandes ulceras na pernas, estando completamente curado com a medicação que aconselhamos.

Citamos os casos mais graves que pudemos observar no hospital da Santa Casa do Rio e hoje esta medicação é ahi empregada systematicamente em leishmaniosicos. pois ao lado da commodidade, nenhum prejuizo acarreta ao doente.

Alguns medicos têm referido a inefficacia do processo em todos os casos de lesões mucosas em que o têm empregado. Não sabemos a que attribuil-a, pois se seguiram a technica que aconselhamos, só podemos explicar a diversidade de acção pela alteração do producto usado.

Varios collegas que se tem utilisado das ampollas usadas no Instituto Oswaldo Cruz, têm colhido os mesmos resultados que vimos.

Carlos Chagas, na Amazonia, teve occasião de empregar esta medicação em innumeros doentes, alguns com lesões de gravidade ainda não registrada e os resultados foram sempre favoraveis, obtendo em muitos a cura completa com poucas injecções.

Em Lassance (Minas) os resultados têm sido identicos, sendo por este nosso collega e seus auxiliares empregado em todos os casos.

Na Bahia, Pirajá consegue com o mesmo methodo curar muitos individuos.

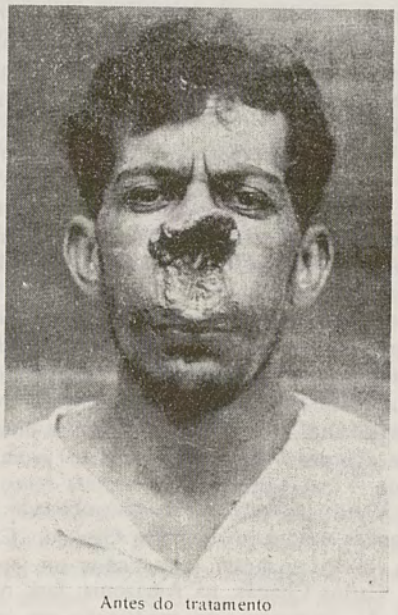
É possivel que outras medicações mais activas e inoffensivas venham substituil-lo com vantagens reas mas até o momento não sabemos de outro que se lhe avantage.

Em um artigo ha pouco publicado, Lindenberg preconiza o tratamento pela trixidina como especifico na leishmaniose tegumentar, mas o modo de usal-a é o primitivo e portanto sujeito a dores violentas e não raro a abcedação e aos perigos dahi decorrentes.

Salvo os rarissimos casos em que o tratamento por injecções intravenosas de emetico não dá resultado, nenhuma medicação até o momento actual o substitue.

ANNAES PAULISTAS DE MEDICINA E CIRURGIA
Vol. II – N. 6

OBSERVAÇÃO I
These de Oscar d'Utra e Silva



Antes do tratamento

OBSERVAÇÃO I
These de Oscar d'Utra e Silva

Depois do tratamento

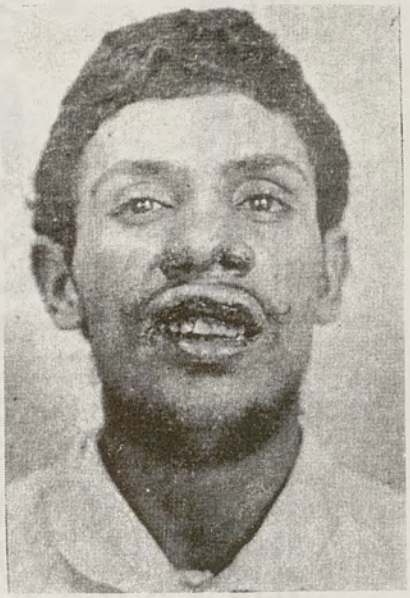
OBSERVAÇÃO 9
These de Oscar d'Utra e Silva

Antes do tratamento

DR. GASPAR VIANNA

Pl. 8

OBSERVAÇÃO 6
These de Oscar d'Utra e Silva

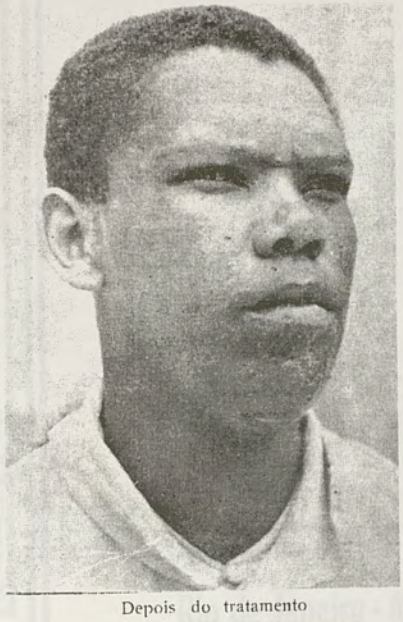


Antes do tratamento

OBSERVAÇÃO 6
These de Oscar d'Utra e Silva

Depois do tratamento

OBSERVAÇÃO 9
These de Oscar d'Utra e Silva



Depois do tratamento

SOBRE O TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

Ano 1919

Tomo XI

Faciculo I

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

O Schistosomum mansoni e a Schistosomatose segundo observações, feitas no Brazil,

pelo

DR. ADOLPHO LUTZ (1).

(Com as estampas 37–43).

Introdução.

A biologia e evolução dos trematodes do genero *Schistosomum*, até ha pouco, eram muito mal conhecidas, mas desde 1911 apareceram varias memorias, anunciando a solução dos problemas mais importantes para quatro especies deste genero. Nos estudos que vão aqui expostos tratarei em primeiro lugar de repetir e controlar as experiencias recentes, referindo-se á unica especie que se observa no Brasil; em segundo lugar de investigar as condições locaes da infecção e determinar entre nos o hospedador intermediario do parasito. Com o fim de dar mais valor pratico a este trabalho e facilitar a orientação, resolvi emfim, recordar brevemente os fatos mais importantes que se referem ao parasitismo dos schistosomos em geral e da especie *mansoni* em particular. Da literatura só mencionarei os trabalhos fundamentaes ou aqueles que mais estreitamente se referem a meu assunto; para os outros recomendo a bibliografia de LEIPER que é facilmente acessivel e muito rica, contendo 521 numeros.

Tratarei em primeira logar do capitulo que se refere á parte historica e geografica dos nossos conhecimentos a respeito do genero *Schistosomum* e das molestias por ele produzidas.

A Schistosomatose ou Bilharziose na Africa.

As lesões produzidas pelos schistosomos eram conhecidas muito tempo antes do causador e existiam no Egypto já em tempos muito remotos, como se verificou pelo exame dos mumios. Foram observadas com grande frequencia ao tempo da invasão de Napoleão e até aos ultimos anos. N'este terreno classico BILHARZ descobriu em 1851 os parasitos causadores, dando-lhes o nome: *Distoma haematobium*, por causa do seu *habitat* intravascular. Bem preparado para estes estudos, ele reconheceu que se tratava de um trematodeo muito especial, caraterisado pela separação dos sexos e seu bimorfismo, tão novo como inesperado. O nome *Schistosoma* (*) WEINLAND, hoje geralmente latinisado em

(*) Palavra composta de σχιστός (fendido) e σῶμα (corpo).

Schistosomum, deve referir-se ao macho cujo corpo parece fendido 2). A fissura aparente dá entrada para um canal, que serve para carregar a femea, o que explica o nome *Gynaecophorus* dado por DIESING em 1859. No mesmo anno COBBOLD, em honra ao descobridor, introduziu o nome *Bilharzia* que (com os seus derivados *Bilharziosis* e *Bilharziasis*) foi muito usado.

Segundo BLANCHARD o nome de WEINLAND foi publicado em 5 de Agosto 1858; o de DIESING, proposto em sessão da Academia de Sciencias em Vienna, só foi publicado em 21 de Outubro e o nome de COBBOLD dataria de 20 de Janeiro 1859; por isso conclue BLANCHARD que o nome de WEINLAND deve ser aceito (LAVERAN & BLANCHARD, Les Hématozoaires, P. 2, p. 40). De fato o uso do nome *Schistosomum* antigamente pouco conhecido, tem se generalisado nas ultimas publicações 3).

Já as primeiras observações, feitas no Egypto, mostravam sintomas, localisados ora nas vias urinarias, ora no intestino, e, ás vezes, combinados; ligavam-se á eliminação de ovos com espinho ora apical, ora lateral. Sendo ambos os processos muito comuns combinavam-se frequentemente num doente, que então eliminava as duas qualidades de ovos. Por isso a opinião geral continuou a considerar os dous processos como dependentes do mesmo parasito, posto que a ideia da duplicidade já muito cedo fosse discutida. Este resultado foi devido principalmente a algumas observações que eram sempre citadas nas discussões e pareciam conclusivas. Hoje, todavia, não se pode duvidar que seja na observação, seja na interpretação, houve erros, aliás bastante naturaes. Por esta fatalidade o conhecimento das referidas infecções sofreu um grande atrazo.

A primeira observação em um fóco, onde existiam apenas ovos de espinho terminal, foi feita no sul da Africa por HARLEY, que julgou tratar-se de um parasito diferente chamando-o *Distoma capense*. (Este nome, a meu modo de ver, deveria ter sido conservado para a forma designada). Em 1912 BOUR encontrou, na ilha Mauricio, 33 meninos com ovos de *Schistosomum* na urina. Não falou de ovos nas fezes, nem mencionou a posição do espiculo no ovo. Em Tunis, as duas localisações e ambas as formas de ovos foram encontrados por muitos observadores; no Sudan, na regtão dos lagos e, geralmente, em zonas quentes e ricas em aguas, mais ou menos, dormentes, observa-se com frequencia a molestia que accommete as vias urinarias. Existe tambem nas ilhas Madagascar, Nossi-Bé e Reunião. A fórma intestinal, frequentemente associada á outra, encontra-se aparentemente isolada no Congo Belga.

Schistosomatose nos outros continentes.

A schistosomatose com localização nas vias urinarias tem sido observada em varias partes da Asia, onde existem fócos endemicos. Quanto ao continente americano, é bastante certo que nunca houve fóco endemico desta forma; os raros casos observados, aparentemente, se referem todos a pessoas que vieram ou voltaram infectados de outros continentes.

É notavel que na America tropical, que recebeu tantos escravos africanos, a forma observada nas vias urinarias não conseguisse localisar-se, quando a forma intestinal (como todos os dias se torna mais evidente) é muito espalhada nas Antilhas e em varios paizes sul-americanos. Ambas as formas foram, sem duvida, importadas muitas vezes, mas só uma delas conseguiu propagar-se. Este contraste acha-se hoje perfeitamente explicado pelo fato, que nos dous casos tanto o parazito como o hospedador intermediario são diferentes, de modo que a possibilidade de localisação depende da fauna de molluscos, encontrada no lugar.

Duplicidade do Schistosomum haematobium BILHARZ.

A idea que que o nome, dado por BILHARZ, compreendia um conjunto de duas especies foi de novo defendida em 1903 por MANSON, baseado em observações americanas. Em 1904 a descoberta de um novo *Schistosomum (japonicum)* (precedida em 1876

pela observação de uma especie bovina, o *Sch. crassum* SONSINO) veiu apoiar esta supposição. Em 1907 SAMBON introduziu para a fórma americana o nome *Sch. mansoni* que foi aceito; realmente devia ter ficado com o nome *haematobium*, visto que a outra fórma já foi separada com o nome *capense*.

A duplicidade da especie foi combatida por varios autores, principalmente por LOOSS que procurou explicar a diferença dos ovos na mesma especie por argumentos que absolutamente não convencem. É singular que o mesmo autor, que tanto se apaixonou para defender a unidade das duas formas, em outras ocasiões seja muito inclinado a estabelecer novas especies e até generos sem melhores argumentos. Hoje, todavia, esta polemica perdeu todo o valor, porque a duplicidade do antigo *Sch. haematobium* já é geralmente conhecida. Conhece-se hoje mais seis especies de *Schistosomum* que todas differem pelos ovos; nenhuma tem mais de uma forma de ovos.

Alguns autores declararam ter encontrado ovos das duas formas, seja no intestino, seja nas vias urinarias. Onde não houve engano, estas observações, aliás muito raras, podem geralmente ser referidas a infeção dupla e já existem algumas explicações para a heterotopia dos ovos nestes casos. Na America, nestes ultimos tempos, numerosos observadores, entre milhares de ovos com espinho lateral, nunca encontráram um só com espiculo terminal; mas é preciso levar em conta que o espinho lateral pode parecer terminal em certas posições, a menos que se tenha o cuidado de rolar o ovo. Como aparece nas figuras 10 e 11, os ovos podem tambem ter um prolongamento obtuso, bem diferente de um espinho e situado ao polo mais distante do espinho lateral. A localisação nas vias urinarias faz sintomas muito mais carateristicos que a outra, que facilmente passa desapercebida; entretanto já WUCHERER não conseguiu encontrar os ovos na urina em casos de hematuria e isso na Bahia, onde hoje a outra fórma é verificada com frequencia. Grande numero de exames de urina, feitos por mim durante 36 anos, nunca me deixaram encontrar um ovo de *Bilharzia* (cuja forma me era bem conhecida), o que, combinado com a experiencia de muitos colegas, permite excluir a existencia desta forma nas partes mais conhecidas do Brazil. Do outro lado examinei no Rio as fezes de muitos doentes de schistosomatose intestinal, adquirida no norte (em alguns casos durante muito tempo), sem encontrar um ovo com espinho terminal. O Dr. OSWINO ALVARES PENNA, que observou os mesmos casos e muitos outros, confirma a minha observação, que está de acordo com os resultados obtidos nas Antilhas, na Guyana Hollandeza e em Venezuela.

Discutirei em outro lugar os carateres que diferenciam as duas especies. O nosso trabalho so se occupa com o *Sch. mansoni* SAMBON, por ser o unico observado no Brazil e mesmo em toda a America, a menos que se trata de casos importados. Nestes tem-se observado algumas vezes o *Schistosomum* localisado nas vias urinarias; geralmente eram de origem africana. Com a immigração asiatica sempre crescente podiam facilmente aparecer infecções de origem asiatica, devidos a *Sch. haematobium* ou mesmo *japonicum* mas o transmissor destes é diferente de todos os nossos molluscos indigenas, de modo que não precisamos receiar a importação do parasito japonez.

O Schistosomum mansoni na America.

Casos de *Sch. mansoni* foram observados na America ou em pessoas lá infectadas desde 1902. Os primeiros fócos, indicados pelos doentes, eram nas Antilhas. Citamos os casos de MANSON (1903, infeção em Antilhas), de LETULLE (1903, caso de Martinique), MAC DONELL (1905, caso de Culebra), LAHILLE (1906, ibidem). Em Porto Rico, que é um fóco importante, GONZALEZ-MARTINEZ observou e publicou os primeiros casos em 1904. Mais tarde ASHFORD, KING e GUTIERREZ IGARAVIDEZ encontraram frequentemente os ovos durante estudos sobre a ankilostomiase endemica. Estes e outros trabalhos posteriores mostram

que entre os focos principaes deve se contar Martinica, Guadelupe, (Vicques ?), Culebra, Porto Rico e Cuba (v. HOLCOMB, 1907).

Na literatura existe mais um caso inexplicado de Schistomatose urinaria com ovos correspondentes, observado por CORTEZ em 1905, em possoa nascida em Guatan, Guatemala. Cita-se tambem que o Dr. BUTLER observou em S. Juan, num habitante de Porto Rico, dous ovos com espinho terminal, evacuados na urina, sem saber onde foi infectado. Em visto do enorme numero de doentes, examinados em Porto Rico por medicos conhecedores do assunto, ha pouca probabilidade de existir lá um foco endemico desta forma de bilharziose; os medicos desta ilha são unanimes em reconhecer a frequencia do *Sch. mansoni* e a falta da forma de ovos com espinho terminal.

Outros casos, constatados na zona do Canal de Panamá por ZEILER (1900), aparecem na literatura sem informação sobre o foco de infeção. Entre estes menciona-se um caso onde coexistiam as duas especies de ovos com as duas formas de infeção. Se o caso for autentico desconfio que se trate de infeção importada de outro continente.

No continente sul-americano, foram observados casos de *Sch. mansoni* na Guayana Hollandeza (FLU, 1908), na Venezuela (BREM, JESUS RISQUEZ), na Columbia (BATES) e no Perú. De um trabalho mais recente de JESUS RISQUEZ resulta que a infeção é muito comum na Venezuela, tendo sido por ele encontrada em 25 % das autopsias feitas em Caracas que constitue um fóco intenso.

Schistosomatose no Brasil.

BLUMGART de Nova York, observou em 1915 o *Sch. mansoni* num Allemão, provavelmente infectado no Brazil onde esteve 7 anos.

Em 1908 e 1909 o Dr. MANOEL PIRAJÁ DA SILVA fez uma serie de communicações sobre a schistosomatose na Bahia, mostrando a sua frequencia. Procurou caraterisar o parasito como especie diferente, que denominou *Sch. americanum*. Descreveu tambem debaixo do nome *Cercaria blanchardi*, uma cercaria observada na Bahia. Pela forma geral, combinada com a sua occorrencia numa especie grande de *Planorbis* póde-se, em vista de estudos posteriores, concluir que esta forma faz parte da evolução do *Schistosomum mansoni*. JOHN MILLER (em 1914) e variosoutros autores se referiam a observações do mesmo parasito na Bahia.

Ovos de *Schistosomum* com espiculo lateral foram encontrados, no Rio de Janeiro, em fezes por GOMES DE FARIA, em tumores do recto por VIANNA e no pancreas por D'UTRA. Estas observações e outras, mais recentes, foram feitas no Rio de Janeiro, mas a anamnese, quando conhecida, indicava tratar-se de infecções, adquiridas no norte do Brazil. O mesmo se dava em numerosos casos, observados por PENNA e outros, onde os ovos apareceram na ocasião de pesquizas sobre a frequencia da ankylostomiase.

Tratava-se principalmente de marinheiros e soldados navaes nortistas, tendo chegado de escolas desta rejião, onde se infecionaram antes de entrar na escola, geralmente por banhos em lagoas habitadas por caramujos. Em alguns a infeção já datava de muitos anos. Eram orijinarios dos estados: Bahia, Sergipe, Alagoas, Parahiba e Rio Grande do Norte, que constituem zona certamente infecciosa. A estes pode-se adicionar Goiaz, onde NEIVA observou uma vez os ovos carateristicos. A infeção provavelmente tambem existia numa lagoa de Obidos e talvez numa outra no Estado de Espirito Santo. Sendo a infecção pouco carateristica, só pode ser reconhecida nas autopsias ou durante a vida pelo exame microscopico das fezes. E' devido a este exame que se vulgarisou pela pesquiza da *Uncinaria* e do *Necator*, que a infecção foi descoberta em tantos focos novos.

As condições indispensaveis para o estabelecimento de um foco epidemico são, de um lado, um clima quente, do outro, a existencia de uma especie de *Planorbis* que se presta para hospedador intermediario. Entre nos o *Pl. olivaceus* e mais duas especies satisfazem esta condição, mas não consta que existam no Rio de Janeiro e de lá para o sul.

THEOPHILO MARTINS, empregado deste Instituto, seguiu, em 1916, para Aracajú e lá verificou a existencia da infeção em varias pessoas que costumaram banharse em lagoas, onde existia o *Pl. olivaceus*, que nesta região é muito abundante. Da Bahia recebemos remessas da mesma especie dos collegas N. PIRAJÁ DA SILVA e OCTAVIO TORRES; usámo-las para infeção artificial. Na ultima, achámos tambem seis exemplares naturalmente infetados que já davam sahida a cercarias de *Schistosomum mansoni*.

Observações mais recentes.

No segundo semestre de 1917 resolveu-se mandar, por conta deste Instituto, uma commissão medica que devia percorrer os estados Rio Grande do Norte, Parahiba, Pernambuco, Sergipe e Bahia (onde constava haver focos de infeção), afim de investigar as condições locaes. A comissão, constituida pelos Drs. ADOLPHO LUTZ e OSWINO PENNA e dous serventes de laboratorio, encontrou casos de schistosomatose em todos estes estados, mas principalmente em Sergipe e Pernambuco onde se demorou mais tempo. Verificaram que o *Planorbis olivaceus* era limitado aos estados Bahia e Sergipe; mais ao norte o hospedador intermediario deve ser um *Planorbis* menor que foi descrito com o nome de *centimetralis* na monografia dos Planorbis sul-americanos, publicada por LUTZ nas memorias do Instituto (Tomo X, Fac. 1, 1918). No extremo norte do territorio percorrido aparece outra especie, *Planorbis guadaloupensis* SOWERBY, que é o transmissor do parasito em Venezuela e talvez tambem em todas as Antilhas, onde elle existe. As ultimas duas especies não forneceram exemplares com infecção espontanea, devido provavelmente á estação, pouco favoravel no caso do *centimetralis*. (No *guadaloupensis* realisei a infeção artificial, usando exemplares obtidos de Maranhão pelo obsequio do Sr. FABRICIO CALDAS DE OLIVEIRA. A infeção do *centimetralis* não foi completada ainda; todavia observei varias vezes a penetração dos miracidios). Do *Planorbis olivaceus* encontraram exemplares infetados uma vez em Sergipe e tres vezes em pontos diferentes do Estadado da Bahia.

Mais recentemente obtivemos informações que permitem incluir Minas na lista dos estados infetados. Soubemos do Dr. HENRIQUE VILLELA que o Dr. ABEL TAVARES DE LACERDA observou em Bello Horizonte varios doentes que expelliam ovos com espiculo lateral e cuja infecção deve se ter dada em Minas. O Dr. OSWINO PENNA tambem encontrou um doente procedendo de Minas, da zona do Rio Pomba.

(Informações mais recentes, obtidos do Prof. SAMUEL LIBANIO e do Dr. MELLO TEIXEIRA, já levam o numero dos casos a perto de trinta.)

Verifiquei que o *Planorbis centimetralis* existe tambem em Bello Horizonte. Especies maiores não forão encontradas.

Com isso combina uma observação de LUTZ sobre a existencia do Planorbis centimetralis em Minas (Retiro perto de Juiz de Fora).

Uma observação recente, provando a existencia do *Sch. mansoni* no Acre me foi communicada pelo Dr. CARLOS CHAGAS; assim hoje quasi todo o territorio ao norte do Rio de Janeiro pode ser considerado infectado.

Para terminar este capitulo dou uma

Recapitulação dos dados mais importantes.

1851 Descoberta do *Distomum haematobium* por BILHARZ no Egypto.

1858 WEINLAND propoe o nome *Schistosomum*.

1864 HARLEY propoe o nome *Distomum capense* para os *Schistosomos* sul-africanos cujos ovos tem um espiculo terminal.

1876 COBBOLD não consegue descobrir o hospedador intermediario.

1874 SONSINO descobre o *Schistosomum crassum* em bovinos mas não acha o hospedador intermediario do parasito humano.

1888 ALLAN indica a infecção por banhos (tambem BROCK em 1897.)

1892-1903 Casos importados de *Sch. haematobium* observados nos Estados Unidos e no Panama.

1902-1903 Começam as observações de ovos com espiculo terminal em doentes das Antilhas por MANSON, LETULLE, GONZALES-MARTINEZ e outros.

1906 BLUMGART em Nova York observa ovos de *Sch. mansoni* num allemão que esteve 7 annos no Brasil.

1907 SAMBON propoe o nome *Schistosomum mansoni*.

1908 Primeira comunicação do Dr. M. PIRAJÁ sobre a occorencia do *Schi. mansoni* na Bahia.

1911 Primeira comunicação de FLU sobre o *Sch. mansoni* na Guyana ollandeza.

1911-1913 Descoberta do *Sch. japonicum* e da sua biologia.

1915 A comissão LEIPER estuda a evolução dos *Schistosomum* do homem no Egypto.

1916 LUTZ estuda no Brasil a evolução do *Sch. mansoni* no *Planorbis olivaceus*.

1916 ITURBE e GONCALEZ verificam que o *Pl. guadaloupensis* é o hospedador do *Sch. mansoni* na Venezuela.

1917 Verificação que parte dos focos brazileiros dependem da presença dos *Pl. centimetralis* e *guadaloupensis*.

1918 Verificação do hospedador do *Schistosomum spindale* do boi por GLEN LISTON and SOPARKAR.

Passo agora á parte descritiva e começo com

O genero Schistosomum.

(Fig. 1—8.)

O genero *Schistosomum* comprende varias especies de *Trematodes* parasitos do sangue e munidos de duas ventosas (buccal e abdominal), razão porque forão collocados a principio no genero *Distomum*, hoje subdividido em muitos generos que formam a familia *Distomidae*. Distingue-se de quasi todos os outros por ter os dous sexos distribuidos sobre dous individuos, em vez de serem reunidos num só. Outro carater é o habitat nas veias, a que o verme é especialmente adaptado. Poucos generos, visinhos e só recentemente separados, participam nestes caracteres, formando uma subfamilia que se pode chamar *Schistosominae*. Cito os generos *Bilharziella* e *Ornithobilharzia*, observados em passaros.

O dimorphismo sexual é muito acentuado. O *Schistosomum* macho tem o corpo achatado e bastante largo, a musculatura desenvolvida e a pele guarnecida de escamas agudas que facilitam a locomoção; a femea tem o corpo filiforme como os nematodes e a musculatura fraca; as escamas faltam ou são pouco distintas.

O corpo do macho alarga-se por traz do processo cephalico, mas as partes lateraes, em vez de estendidas, são enroladas, formando do lado ventral o "*canalis gynaecophorus*", dentro do qual se costuma encontrar uma femea, raras vezes mais. Os *orgãos genitaes* são reduzidos a um *testiculo* subdvidido, ás vezes terminado por *vesicula spermatica*, e um vaso deferente sem orgão copulador.

Na femea ha um *corpo vitelligeno*, um *ovario* e um canal comprido que representa o *utero* e a *vagina*. Um pequeno segmento, que contem o ultimo ou unico ovo com casca perfeita, pode ser designado pelo nome *ootypo*.

Nos dous sexos falta um *bulbo pharyngeo* ou *esophageano* e o *intestino*, dividido a principio, se une outra vez em extensão maior ou menor.

(Ha tres especies que são parasitos do homem e mais cinco que vivem em animaes domesticos. Todas distinguem-se facilmente pela forma dos ovos. As especies humanas podem ser observadas em macacos e roedores, espontaneamente ou em consequencia de

tentatativas de infecção. O *Sch. japonicum* ataca quasi todos os animaes domesticos.

Tratarei agora da descrição e difenciação do.

Schistosomum mansoni.

(Fig. 1—8, 15).

A morfologia e anatomia do *Schistosomum haematobium* foram estudadas pelo descobridor e depois por LEUCKART, R. BLANCHARD, CHATIN e FRITSCH, já antes de 1888. O assunto foi resumido novamente por BLANCHARD em 1989 e por LEUCKART na segunda parte da sua obra classica, com collaboração de LOOSS. Podia-se considerar o assunto esgotado, se os autores tivessem trabalhado com uma especie só e não com uma mistura das duas, quando não se referiam unicamente á forma, localisada nas vias urinarias. Assim os dados tem um valor apenas relativo e as descrições devem ser emendadas para cada uma das especies, reunidas debaixo do nome *Sch. haematobium*.

As differenças já forão apontadas por PIRAJÁ, FLU, HOLBORN e outros autores que estudaram a especie americana. Faltando uma comparação com exemplares frescos da outra especie, o valor de alguns dos caracteres diferenciaes podia ser posto em duvida, se LEIPER (que ainda ultimamente teve ocasião de comparar as duas especies no Egypto) não tivesse confirmado o valor dos caracteres mais importantes que garantem a diferenciação facil e segura. Nos nossos exemplares verifiquei tambem todos os caracteres que elle dá como especificos do *Schistomum* intestinal do Egypto que deve ser identificado com o *Sch. mansoni*. A este opinião tambem já tinha chegado GONZALEZ MARTINEZ como se acha registrado numa publicação recente.

Os caracteres de genero, communs as duas especies, são os seguintes:

Habitat no systema circulatorio. Alimentação com sangue.

Bisexualidade. Machos com canal gynecophoro, femeas filiformes.

Produção de ovos sem tampa, contendo um miracidio quando expelidos pelo hospedador.

Penetração do miracidio em moluscos de agua doce, onde formam sporocystos e cercarias que emigrão espontaneamente.

Cercarias sem bulbo pharyngeo com a cauda bifurcada, munidas de grandes celulas glandulares e capazes de infetar animaes penetrando pela pele em contato com agua.

Para distinguir as especies *haematobium* e *mansoni* bastam as seguintes differenças que parecem bem estabelecidas:

Haematobium.

♂ Testiculo composto de 4 ou 5 lobos.
Vesicula seminal anterior aos lobos do testiculo.
♀ Ovario na metade anterior do corpo.
Ovo perfeito com espinho terminal.
Utero comprido com muitos ovos.
Vitelligeno curto no quarto caudal.
♂ ♀ Coecum curto.
Primeiros estados em *Physopsis*.

Mansoni.

♂ Testiculo com cerca de oito lobos.
Não foi observada vesicula seminal.
♀ Ovario na metade caudal do corpo.
Ovo perfeito com espinho lateral.
Utero curto, quasi sempre com um ovo só.
Vitelligeno ocupando os dous terços posteriores do corpo.
♂ ♀ Coecum comprido.
Primeiros estados em *Planorbis*.

Alem destas differenças pode haver outras menos seguras e de apreciação mais dificil, referindo-se ao tamanho do corpo e das ventosas, á distancia e terminação do coeco e a corpo e á armação da pele nos dous sexos. É certo que a forma dos testiculos e do intestino são um tanto variaveis, mas as differenças vão muito além de variações.

Para differenciação clinica basta a forma do ovo encontrado nas fezes e a localisação da molestia.

As dimensões dependem (no material morto) tanto do modo de fixação como das condições que precederão e influirão sobre a contração ou relaxação muscular. Estas são muito pronunciadas no material vivo, de modo que os dados têm apenas um valor approximativo. Os velhos autores não discriminarão as duas especies e nenhum autor moderno parece ter comparado as duas especies em condições identicas. De autores modernos BRUMPT dá para o *haematobium* macho 10 a 15 mm. de comprimento, a largura não excedendo 1 e para a femea 15 a 20 para 0,1 a 0,2 mm. de largura maior. PIRAJÁ dá para *mansoni* no macho a longura de 12 e a largura no meio de 0,448 mm. na femea as mesmas medidas importam em 14,5 a 15 para 0,168 mm. Não posso calar a minha impressão que as dimensões de *mansoni* parecem ser um tanto inferioras ás do *Sch. haematobium*.

A coloração tambem varia conforme as circumstancias; julgo pouco provavel que neste ponto haja uma diferença fundamental entre as especies.

Ovos de Schistosomum mansoni.
(Fig. 9—15.)

Carateres dos ovos encontrados nas fezes.

A evolução do *Sch. mansoni*, fora do corpo humano, principia com os ovos eliminados nas evacuações alvinas que merecem um estudo especial por fornecer o principal meio de diagnostico. Desprezando este, é quasi impossivel chegar a um diagnostico seguro e por isso a frequencia do parasito na America do Sul só se tornou conhecida em consequencia da pratica de procurar os ovos dos outros parasitos intestinaes.

Os ovos de *Schistosomum* são grandes, mas a sua casca é transparente e fragil. Por isso não apparecem bem em preparações um pouco opacas e podem ser destruidos por pressão. Devido á pequena produção são comparativamente raros e facilmente escapam ao exame direto, quando as femeas adultas não são muito numerosas. Infeções pequenas ou recentes não podem ser seguramente excluidas, porque os ovos levão bastante tempo para chegar ao intestino quando não encalhão definitivamente, o que parece frequente.

(O exame torna-se mais facil pela lavagen repetida das fezes, seguida de sedimentação simples ou centrifugação. Com estas combina-se o uso de tecido de arame e de gaze de moleiro para reter todos os corpos mais grossos. Assim obtem-se um sedimento que contem quasi exclusivamente corpusculus amylaceos e ovos de parasitos, sendo facil de examinar).

A aparencia do ovo está bem representada nas figuras que damos. Os ovos normaes (Fig. 15) são munidos apenas de um espinhos lateral e contêm um embrvão bem visivel. Em ovos pathologicos o tamanho pode ser diminuido, faltando o embryão. Pode haver num dos polos um prolongamento mais ou menos comprido (Fig. 10 e 11), mas este só pode ser confundido com um espiculo terminal, quando o exame for pouco cuidadoso. A existencia de dous espiculos lateraes não foi ainda assinalada. A figura 12 mostra o unico caso desta anomalia rara que verifiquei no exame de milhares de ovos. Os ovos com ou sem embryão podem ser calcificados ou encrustados por crystaes [Fig. 13 e 14].

Os ovos com espinho lateral foram recentemente estudados nas publicações de HOLCOMB e GONCALEZ MARTINEZ. Ambos derão figuras que são um tanto esquematicas, principalmente as do ultimo autor. Dou tambem uma figura tirado do natural (Fig. 15). A casca exterior do ovo ou *chorion* tem uma forma ovoide bastante regular, apenas interrompida pelo espiculo cujo apice agudo é compacto, sendo a base conica e excavada. A sua grossura é apreciavel, principalmente nos polos onde é muito aumentada (Fig. 15).

As dimensões dos ovos são um pouco variaveis em estado normal. HOLCOMB dá 112 a 162 micra para o eixo maior e 60-70 para o menor. Baseado em trinta medições, GONZALEZ MARTINEZ indica uma media de 147 para 67,09. Estas medidas combinam

melhor do que as do espiculo cujo comprimento o primeiro autor dá como 15-17 contra 22,7 do segundo (largura 7,5), mas isso pode depender do modo de medir. O ponto de inserção, segundo HOLCOMB, é afastado do polo proximo pela quarta parte do eixo maior.

A membrana interior *amnion* ou membrana vitellina acompanha a outra de perto, mas não entra no espiculo e deixa nos polos uma calota de dimensões variaveis, geralmente maior no polo mais distante do espiculo, que se pode considerar o anterior por ser mais frequentemente ocupado pela extremidade cephalica do embryão. Assim o espiculo fica dirigido para traz.

Ambas as membranas são finas e transparentes, mas o *chorion* é mais amarelado, sendo o *amnion* hialino; todavia este pigmento como em outros ovos de entozoarios é derivado das materias fecaes e falta em exemplares que forão protegidos por densa camada de muco.

O embryão ou miracidio dentro do ovo maduro.

(Fig. 15.)

Os ovos normaes sahem do intestino com o embryão completamente formado e vivo. (Os envolucros transparentes não impedem o estudo, mas os poderes fracos não bastam para apreciar todos os detalhes de estrutura. Usando lentes de immersão é indispensavel fixar a laminula na lamina, o que pode ser feito por paraffina ou terebenthina. Assim obteremos imagens nitidas, mas os contornos dos orgãos internos são sempre muito delicados e a superposição não permite ver tudo no mesmo ovo. Por isso convem examinar muitos ovos em posições variadas).

O embryão é revestido de cilios que na parte anterior são mais compridos e dirigidos para a frente. Faltam na papilla bucal e no resto do corpo são virados para traz.

Ha tambem quatro aberturas tubulares do systema excretorio contendo membranas vibrateis. Os troncos maiores com laminas ciliadas tambem apparecem as vezes em parte do seu decurso.

A existencia de fibrillas contrateis, o tadas em duas ou tres direções, é indi pelos movimentos energicos que o emb faz, antes de sahir. Ao contrario do que ratura do assunto parece indicar acho a monstração optica muito dificil e incerta

Ha um saco gastrico que se distin facilmente quando está cheio de granulo tellinos. Abre-se na boca por meio de canal, largo na base e mais estreito em reção á boca. As paredes do saco e do c parecem muito frouxas.

Ao lado do estomago reconhece-se duas grandes cellulas glandulares cujo nu não consigo ver a fresco. O canal excret começa largo e diminue gradualmente chegar á papilla cephalica onde e defle para fora, terminando num poro obli Quando cheios, os canaes e as glandulas facilmente percebidos, estas podem ser das para dentro e cobrir o saco gastrico. figura 15 as glandulas e o saco não muito cheios e apparecem claramente no m plano). O conteudo das glandulas não é g nular, como se podia deduzir de figuras se referem ao embryão da outra especie

Tambem não consigo ver uma indic clara do systema nervoso, nem mesmo com as figuras publicadas, mas uma gra cellula vesicular, abaixo dos orgãos desc e quasi no centro do embryão, e mais um duas semelhantes, posto que menores. parece que a sua função pode ser comp da á de um balonete no meio de um ba dando ao corpo uma certa rigidez e elas dade, necessarias para os movimentos. O r do corpo é formado por massas espheri maiores e menores; são pouco definidas presentão sem duvida as cellulas germi vas.

(HOLCOMBE dá a figura de um bryão com seis vesiculas claras que se p ciam com glandulas. Ja vi um com seis mesmo nivel e mais para diante outros Simulavam glandulas, mas parece-me qu deve tratar de outras cellulas vesiculares).

Os cilios exteriores e interiores só mettem em movimento, quando o ovo

num ambiente liquido e ha penetração de agua por osmose. Isto se dá quando os ovos são isolados por lavagem em agua comum.

Ecdyse e vida livre dos embryões ou miracidios.

(Fig. 15—17).

As condições que favorecem a ecdyse ou sahida do embryão são agua pura, luz e uma temperatura apropriada, visinha a 30°. No inverno do Rio de Janetro ha muitos dias, que não se prestam para esta observação, e em zonas temperadas as condições naturaes só excecionalmente permitem a ecdyse.

O melhor processo para observar o miracidio na sua vida livre consiste em lavar, tamisar e sedimentar as fezes mais ricos em ovos usando agua de temperatura baixa. O sedimento é colocado com pouca agua em pequenos crystalisadores, placas de Petri etc. e depois exposto ao sol. O mesmo resultado pode ser obtido aproximando um lampada electrica a um distancia que basta para levantar a temperatura da agua a cerca de 30°. Mesmo em condições optimas quando os primeiros miracidios apparecem logo, nunca se obtem a sahida de todos, talvez porque uma parte não atingiu ainda a maturidade completa. Recolhendo o resto em lugar menos illuminado e quente, a experiencia, repetida uma vez por dia, dá ainda resultados positivos durante os tres ou quatro dias que seguem. Mesmo depois de 8 dias acham-se ainda ovos com embryões vivos, mas estes não procuram mais sahir dos ovos.

A ecdyse é precedida por penetração de agua exterior na casca que se dilata um tanto. Talvez a secreção das glandulas facilite este processo. Nota-se movimentos brownianos nos granulos vitellinos e começa o jogo dos diferentes cillos e membranas vibrateis. Depois seguem, em intervalos, contrações energicas do embryão que se pode virar completamente dentro da casca. A sahida é instantanea e por isso facilmente passa desapercebida. Numa observação minha era precedida por uma rotação muito energica e rapida do embryão, contrahido até assumir uma forma quasi espherica.

A casca vasia geralmente mostra uma abertura fusiforme, atravessando obliquamente o ecuador da casca. Estas cascas vasias oferecem um contorno caracteristico e tão facilmente reconhecido, como o aspecto do ovo cheio.

Depois de sahido do ovo, o miracidio alonga-se, tomando uma forma cylindrica, e nada, em grandes curvas, com direcção á luz até ser ser detido pela margem da placa. Com forte illuminação obliqua é facilmente reconhecido pelo movimento caracteristico. (Deve-se evitar uma confusão com certos infusorios e principalmente com rotatorios.) Em temperaturas menos favoraveis o embryão torna-se mais piriforme e vae ao fundo. O mesmo acontece depois de ter nadado algumas horas, sem encontrar um hospedador adequado.

Fechados em capillares e expostos na geleira a temperatura muito baixa, os miracidios tornão-se piriformes; depois ficam immoveis e morrem em pouco tempo, a menos de ser retirados logo. N'este caso pode reassumir a sua actividade. Sempre são muito mais sensiveis para o frio do que as cercarias, o que faz comprehender como uma infecção já realisada das antenas do caramujo pode ser interrompida em consequencia de alguns dias frios.

Penetração dos miracidios nos molluscos.

(Fig. 18, 39a.)

Para observar a penetração, introduz-se os molluscos em placas de PETRI que contêm os miracidios. Um binocular é de grande utilidade, mas basta qualquer lente de poder fraco. No principio, os miracidios continuam nas suas evoluções, passando ás vezes perto dos caramujos, sem fazer caso. Depois approximam-se pouco a pouco das especies preferidas. Subitamente um ou outro fixa-se em alguma parte exposta. Seguem outros, pouco a pouco, mas ainda por muito tempo observam-se exemplares refractarios.

As especies experimentadas eram dos generos *Planorbis, Physa, Lymnaeus, Ancylus* e *Ampullaria*. Com raras excepções, explicadas talvez por contacto previo com exemplares das outras especies, as tres ultimas eram completamente desprezadas. As *Physas* e *Planorbis* (de sangue vermelho) offereciam egual attracção, sendo preferidos os exemplares já crescidos; ao contrario do que esperava, a attracção parecia aumentar com o tamanho. O ponto preferido é a antena, que se presta muito bem para as observações ulteriores. O resto da cabeça e a região postantennal tambem são muito attacados. O pallio exposto é pouco procurado nos *Planorbis*, um pouco mais nas *Physas;* o pé é quasi sempre despresado.

O miracidio, no momento de penetrar, tem uma forma alongada cylindrica como se vê na fig. 18. Penetra por meio de movimentos que lembrão um pistão de bomba ou uma broca. O tempo necessario regula 10 a 15 minutos. Depois destes o miracidio é encontrado estendido no tecido subcutaneo. Mostra ainda os cilios, mas as glandulas ficarão vasias. Muitas vezes o embryão cahe ou abandona o lugar depois de varias tentativas de penetrar.

Até hoje, só se conhece quatro especies de *Planorbis* que se prestam para o papel de hospedadores intermediarios. São o *Planorbis Boyssyi* do Egypto, o *guadaloupensis* das Antilhas, de Venezuela e do Norte do Brasil, o *olivaceus*, encontrado na Bahia e em Sergipe, com que realisei a maior parte das minhas experiencias, e, finalmente, o *centimetralis mihi*, encontrado nos Estados do Norte, principalmente em Pernambuco e tambem no Estado de Minas. As outras especies, estudadas na minha monographia dos *Planorbis* brazileiros, não se prestam para este papel. Em algumas d'ellas, como na *Physa*, a penetração do miracidio corre normalmente, mas a evolução posterior dos parasitos pára depois dos primeiros estadios.

Parece que os miracidios que procuram penetar em outras regiões que as antenas e a região dos olhos, não o conseguem ou morrem pouco depois, porque nunca encontrei os estados ulteriores em outros pontos. Todavia é possivel que um ou outro miracidio passa pela abertura respiratoria e se localise na parte visceral.

Os meus estudos foram todos feitos nas antenas, que são facilmente observadas e podem ser amputadas, sem prejudicar o caramujo. Mesmo as antenas destacadas de *Physa* ou *Planorbis* (que se dislocam pela acção do epithelio vibratil como se fossem vivas) infeciam-se facilmente.

As tentativas de penetração, bem ou mal succedidos, produzem na antena do caramujo uma reacção local, caracterisada por tumefacção, acompanhada de hyperemia, bem apreciavel por causa do sangue vermelho. E', sem duvida, devido á secreção glandular cuja inoculação deve amolecer os tecidos, facilitando a penetração. Os caramujos são bastante indolentes, mas, quando attacados por maior numero de miracidios, procuram recolher as partes expostas ou fujir da agua.

Esta primeira reacção retrocede em poucas horas, a ponto de deixar apenas um ou mais pequenos nodulos.

(Uma antena, decepada dous dias depois da penetração do miracidio, tinha apparencia edematosa. Achatada debaixo de uma laminula e fechada com soro physiologico, tornou-se bastante transparente permittindo o exame com lente de immersão. O sporocysto ainda aparecia estendido em sentido longitudinal, mas tinha, do lado de fóra, um espaço claro onde se viam os restos da membrana vibratil. Os cilios do epithelio já tinham desaparecido deixando apenas restos indistintos. O contorno era agora muito fino e os dous polos não se distinguiam, porque a papilla, o saco gastrointestinal, as glandulas com seus tubos excretorios e as grandes cellulas vesiculares tinham desaparecido. Por dentro via-se pequenos granulos, corpusculos redondos com aspeto de nucleos, elementos vesiculares e algumas celulas hialinas maiores, no meio de uma massa protoplasmatica sem estructura aparente. Ainda existiam os quatro orificios tubulares mostrando no interior o jogo animado da membrana vibratil que, depois de cinco horas, ainda continuava com a mesma

rapidez. Tambem o epithelio vibratil da antena estava ainda em bom estado, mas dez horas mais tarde todo o movimento tinha cessado, os epithelios da antena estavam destacados e os seus cilios tinham desapparecidos ou achavam-se soltos.)

Os miracidios que não achão occasião de penetrar cahem pouco a pouco ao fundo e morrem, depois de ter expelido a secreção das glandulas.

Desenvolvimento dos sporocystes de primeira e segunda generação.
(Figs. 18—50).

Examinando uma antena de *Pl. olivaceus* logo depois da infecção encontra-se o miracidio debaixo da pelle, estendido longitudinal; as glandulas e o intestino, pouco apreciaveis, parecem vasias, mas as laminas do systema excretorio e os cilios do epithelio exterior continuam a vibrar. Observam-se tambem contrações e deslocamento do miracidio. Finalmente socega tudo. O epithelio destáca-se e fica apenas um sacco ovolar com membrana fina, no qual as celulas germinativas proliferam e tornam-se mais distintas.

Depois de tres ou quatro dias uma tumefação secundaria das antenas indica a evolução dos sporocystos. Estes tumores simples ou moniliformes aumentam nos primeiros quinze dias. Depois de 20 dias, mais ou menos, empallidecem e murcham, sem desapparecer completamente. Assim os exemplares infectados podem ser reconhecidos ainda muito tempo depois. Convem todavia lembrar que lesões semelhantes podem ser produzidas pelo parasitismo de outros trematodes.

Depois de poucos dias a membrana torna-se tão fina que é dificilmente reconhecida; nem se consegue tingil-a na antena achatadada. Esmagando um dos tumores, cinco ou seis dias depois da infecção, vê-se grande numero de massas redondas, formadas por cellulas com granulo central que parece um nucleo. Parte dellas infiltra a região entumecida da antena e outra escapa pela ruptura. O exame em cortes coloridos não offerece maior vantagem.

Alguns dias mais tarde, as massas alongam-se, constituindo sporocystos secundarios curtos e grossos, dotados de movimentos que se pode observar na lympha das antenas e por pouco tempo no soro physiologico. Ha constricções que parecem indicar uma multiplicação por estrangulamento. Na agua alteram-se logo. Neste periodo começa a migração para o sacco visceral, onde, depois de vinte dias, se acham sporocystos muito compridos que parecem ramificados e contêm outras massas ovaes, destinadas a formar novos sporocystos ou cercarias. Na ultima o corpo é formado em primeiro lugar, depois aparece a parte impar e finalmente a parte bifurcada da cauda. O corpo inteiro está ainda revestida de um epithelio cujos nucleos se coloram facilmente. Cercarias vivas e activas só aparecem com trinta e poucos dias. Outras vezes, com temperaturas menos favoraveis, parece haver formação de novos sporocystos.

Cercarias de cauda bifurcada.
(Figs. 48, 51—68.)

Ja faz muito tempo que se conhece cercarias de cauda bifurcada, mas o seu destino era desconhecido; passavam mais por uma curiosidade sem grande importancia. Nos paizes européos parecem mais raras, em comparação com outras regiões mais quentes, onde podem constituir cerca da metade das especies, facilmente encontradas. Entre nós, conheço quatro especies bem distintas, encontradas em *Planorbis* e mais uma, observada num *Semisinus*.

Em 1913 MIYAIRI e SUZUKI publicárão um trabalho importante em que descreverão a evolução do *Schistosomum japonicum*. A cercaria foi encontrada num mollusco de agua doce, que me parece bastante visinho do genero *Bithynia*. Foi considerado novo e passa hoje debaixo do nome *Bianfordia* ou *Katsayama nosophora* ROBSON. A descrição e as figuras mostram que se trata de uma cercaria de cauda bifurcada, sem bulbo pharyngeo e com seis grandes glandulas unicelulares na parte posterior do corpo. Segundo os autores nasceriam em redias secundarias, mas parece tratar-se realmente de sporocys-

tos. Verificou-se a infeção percutanea de animaes de experiencia.

As observações dos autores japonezes forão confirmadas e ampliadas por observações independentes de LEIPER. Este, como chefe de uma commissão, continuou os seus estudos no Egypto, onde pesquizadores anteriores, entre muitas cercarias observadas, não reconheceram aquellas do *Schistosomum*. Encontrou quatro cercarias que correspondiam aos caracteres conhecidos e conseguiu obter schistosomos em animaes de experiencia, tanto por infeção cutanea como por injestão de cercarias. Indicou como hospedadores intermediarios do *Sch. haematobium* caramujos que se filiam aos generos *Physa* e *Planorbis*.

Mais tarde concordou na separação em *Sch. haematobium* e *Sch. Mansoni* indicando *Physopsis africana* como principal hospedador intermediario do primeiro e *Planorbis Boissyi* como o de *mansoni*. Comparou a anatomia e biologia das duas especies.

Descrição das cercarias de Schistosomum Mansoni.

(Figs. 48, 51—63.)

As cercarias recenformadas, que abundam nas visceras dos caramujos infectados, são cobertas, corpo e cauda, por um epithelio com nucleos grandes conchegados, revestindo tambem as ventosas que assim se salientam muito. Despido deste por uma especie de muda, o corpo torna-se muito mais translucido, sem mostrar mais distinctamente a sua estructura (Fig. 62).

Em preparações frescas ou fixadas em acido osmico, em outras fixadas em formalina e córadas por varios processos e finalmente nos cortes de caramujos infectados, tingidos por hematoxylina, só ou seguida de eosina ou Van Gieson, cheguei a verificar as seguintes particularidades e estructuras, que não se consegue perceber facilmente, empregando apenas um methodo.

O corpo da cercaria mostra, nos movimentos, as formas variadas, geralmente observadas nos trematodes e devidas á sua contractibilidade extraordinaria. No estado de repouso assume a forma de um ovo com polo largamente truncado. O comprimento maior é de 0,14 mm., a maior largura importa em 0,04—0,05 mm. A cauda, bastante contractil, é formada por uma parte longitudinal que tem no repouso uma fórma obconica allongada; á sua extremidade truncada se adapta uma peça transversal, em fórma de fuso allongado, que pode ser dobrada em direcção apical, de modo a formar um prolongamento da outra parte. A peça basal tem ca. de 0,27 de comprimento por 0,03 de maior largura, a transversal, em cada metade, um comprimento de ca. de 0,08 mm. Assim o comprimento total pode alcançar, mais ou menos, meio milimetro. Estas dimensões são sufficientes para se perceber, com boa illuminação, a cercaria immovel em forma de um pequeno risco branco. Em movimento de natação toma uma forma de 8, em consequencia dos seus movimentos rapidos, e torna-se completamente caracteristica.

Todo o corpo, inclusive a cauda, é translucido, ligeiramente opalescente e coberto de espinhos extremamente finos.

O corpo, que representa o *Schistosomum* completamente novo, tem duas ventosas, das quaes a anterior, com 0,06 mm. de comprimento e 0,03 de largura, é muito maior. Tem a fórma de 3/4 de um ovo sendo limitada por uma capsula rija, provavelmente quitinosa. A musculatura parece pouco accusada, mas toda a porção buccal e pharyngea, situada na abertura posterior da ventosa, pode entrar nella chegando á abertura exterior e funcionando com um pistão de syringa, facto este que se verifica constantemente.

Dentro da abertura exterior da ventosa existe uma corôa de 6 ou mais pequenos espinhos que, junto com a região que a supporta, pode ser protrusa na fórma de uma pequena proboscide. Perto destes espinhos se abrem os canaes excretores das glandulas abdominaes; assim parecem destinados a inocular nos tecidos a secreção destas celulas. Os canaes, em numero de tres de cada lado, são dispostos como as cordinhas de uma corda. Perfuram a ventosa buccal e correm para o abdome em trajecto sinuoso, sendo

tão conspicuos, que se podia confundi-las com alças intestinaes. Terminam em 6 ou mais cellulas relativamente enormes (de 0,03 mm. de diametro), com grande nucleo (de 0,01 mm.) e protoplasma granuloso, situadas em parte atraz da ventosa ventral e occupando um grande espaço, caracterisado por maior transparencia. A ventosa abdominal (com 0,016 mm. de diametro) parece muito pequena e situada bastante para traz, podendo ser retrahida e extrusa. Para traz da ventosa vê-se (em preparações coloridas) uma agglomeração de nucleos pequenos, em grande parte alongados; ha outros entre a ventosa buccal e as glandulas unicellulares e em redor das ventosas. O intestino não pode ser percebido distinctamente; parece ser formado por um sacco simples e curto, em continuação do esophago e pharynge que não têm bulbo e são pouco visiveis. Não se distingue claramente um esboço do systema genital; elle devia ser variavel conforme os sexos. Os numerosos nucleos que se percebe nas cercarias, parecem, pela maior parte, ligados ao systema muscular; outros pertencem talvez aos ductos excretorios, ao intestino ou sirvam para a formação do apparelho sexual, mas este parece ainda tão pouco differenciado que (apesar de muito estudo) não consegui obter delle imagens claras.

A cauda e a sua peça transversal são formadas por cellulas nucleadas bastante grandes. Gozam de movimentos independentes, mesmo algum tempo depois de separadas do corpo, com que a cauda forma uma especie de articulação.

No *Schistosomum* novo, depois da penetração, não se encontraram mais as grandes cellulas glandulares cuja função evidentemente terminou. Pelo resto percebe-se a mesma estructura; apenas, os ductos glandulares parecem em via de retrogresso (Fig. 69).

Nesta especie a parte forquilhada da cauda é uma peça subfusiforme, separada, porém adaptada pelo meio á extremidade truncada da cauda; é capaz de dobrar-se no meio, até formar um prolongamento desta. Na superficie da agua assume uma posição transversal rectilinear e sustenta a cercaria que fica com o tronco dependurado. As duas extremidades acham-se frequentemente enroladas. Ao nadar a cauda vibra com muita rapidez, facilitando assim o reconhecimento da cercaria, aliás apenas preceptivel, a menos de illuminação lateral intensa. A parte anterior, pouco desenvolvida, dá ás cercarias, examinadas com poder fraco, o aspecto de spermatozoides (Fig. 51).

Pelo exame dos molluscos infectados verifica-se que as cercarias nascem em sporocystos que se encontram em grande numero no figado e na glandula bisexual. Nos folliculos infectados do figado o tecido glandular desapparece, o que explica o estado de atrophia e marasmo, muitas vezes observado nos *Planorbis* infectados. O caramujo que mais durou morreu com tres mezes de infecção, depois de ter provavelmente produzido alguns milheiros de cercarias; no fim deste periodo a producção já estava muito diminuida.

Condições da sahida das cercarias maduras.

Na ausencia completa da luz as cercarias maduras não mostram disposição para sahir do caramujo, mesmo com temperaturas de 30 a 31. Podem accumular-se em grande numero em mucosidades adherentes aos caramujos. Na geleira, com bastante frio e obscuridade completa, as cercarias livres ficam no fundo da agua, fixadas pela ventosa buccal; nestas condicções conservam-se vivos durante mais de 24, porém menos de 48 horas. Quando o caramujo se retrahe no fundo da casca, como faz antes de morrer, tambem não sahem, de modo que pelo esmagamento da casca pode-se obter centenas de cercarias vivas em agua onde antes não havia uma.

Expondo os caramujos ao sol activo, durante algumas horas, obtem-se grande numero de cercarias, de modo que as infecções experimentaes são feitas de preferencia ás tres ou quatro horas da tarde. Pode-se concluir que tambem a esta hora os banhos são muito mais perigosos, do que o são de manhã cedo.

A luz só, sem calor correspondente, tambem não é favoravel para a sahida das cercarias.

Quando as cercarias são activas, vêm á superficie, onde podem descansar muito tempo dependuradas pela parte transversal da cauda. Com qualquer abalo da agua, assumem logo a mobilidade excessiva que faz o corpo aparecer em figura de 8.

Em tubo capillar, collocado durante um quarto de hora sobre o gelo, conservavam vida e mobilidade; congelados em agua durante alguns minutos mostraram-se mortas.

Tres caramujos, conservados durante a noite numa temperatura de cerca de 30° sem darem sahida a cercarias, produziram enorme numero, depois de terem sido expostos (sem vidro azul) aos raios de uma lampada de NERNST (para microscopia), até obter uma temperatura favoravel. A luz diffusa da manhã não teve este effeito.

Em condições favoraveis de temperatura as primeiras cercarias podem aparecer depois de 30 e poucos dias. Com temperaturas mais baixas o seu aparecimento é demorado, ao que parece, devido á formação de novos sporocystos em vez de cercarias.

No principio o numero de cercarias, que sahem dos caramujos infectados e se espalham na agua, é pequeno, de modo que facilmente passam desapercebidas. Com o tempo tornam-se mais abundantes e a emigração pode continuar por varias semanas. Não é facil observar a sahida, mas verifiquei occasionalmente que se dava pelo intestino, sem querer affirmar que seja o unico caminho. Parece provavel que todos os canaes que conduzem á superficie do corpo sejam occasionalmente approveitados.

Penetração das cercarias.

As cercarias da agua podem penetrar pelas mucosas, no acto de ingeril-a, ou pela pelle, na occasião de banhos e trabalhos na agua. Em outras occasiões os pés descalços e as mãos servem de pontos de entrada. Esta se dá facilmente, mas difficilmente poderá ser observada directamente. Ha todavia provas claras do facto que consistem no desapparecimento dos corpos das cercaria do liquido, a demonstração delles em côrte da pelle, a reacção no ponto de entrada e o apparecimento dos parasitos adultos depois do tempo necessario.

LEIPER já verificou a infecção de roedores e macacos. Nas minhas experiencias cobaias e coelhos deram resultados muito demonstrativos. A penetração parece realisar-se em todos os animaes experimentados mas em muitos destes a evolução não continúa até ao estado adulto.

Nas experiencias pode-se empregar banhos parciaes em agua contendo cercarias ou amarrar os animaes por um modo que seja bem supportado e banhar uma região da pelle raspada por meio de um tubo largo. Depois de meia hora encontra-se a agua cheia de caudas, destacadas no acto da penetração do corpo das cercarias. Os animaes, principalmenre os ratos brancos, podem dar signaes de comichão, seguida de reação local apreciavel durante alguns dias.

Examinando um fragmento de pelle, retirado depois de 20 a 60 minutos do ponto de applicação do tubo, se pode demonstrar o corpo das cercarias nos cortes. Obtive resultados positivos na cobaia, no rato e num leitão que forneceu o material para a figura 69. Vê-se o *schistosomulo* na rede de MALPIGHI, a cabeça tocando a cutis. As glandulas estão vasias como verifiquei até num exemplar que estava apenas em via de penetração.

A penetração nas mucosas deve ser muito mais facil, mas mesmo a camada cornea da pelle cede ao emprego combinado da secreção glandular e da acção mecanica. Os folliculos pilosos e orificios glandulares não são procurados, como ja verificou LEIPER que experimentou com um camondongo recemnascido. Neste a penetração se realisou em 10 minutos. Todavia, baseado em muitas experiencias, considero este tempo insufficiente, para obter um resultado completo em animaes adultos.

— 136 —

Evolução dos Schistosomos nos mammiferos.

Depois da penetração, ha um periodo, em que a evolução dos schistosomos é pouco conhecida. É provavel que penetrem logo na corrente circulatoria que os leva para differentes orgãos; depois de um tempo indeterminado, param na circulação portal. Obtive resultados positivos nos roedores, quando o numero das cercarias era bastante elevado e haviam decorrido algumas semanas, o que permitte a estes trematodes alcançar um tamanho sufficiente para serem percebidos com alguma facilidade. Na falta destas condições e pesquiza dos schistosomos pode dar um resultado negativo.

Nos roedores, o desenvolvimento de um numero consideravel de *Sch. Mansoni* é compativel com todas as apparencias de saude. Os vermes são evidentemente bem adaptados á vida nos vasos e a absorpção de sangue não é sufficiente para produzir uma anemia seria. Os symptomas são geralmente devidos á postura e migração dos ovos, que só começa depois de algumas semanas. Nas fezes das cobaias infectadas, os ovos foram encontrados só depois de 2 ½ mezes e ainda em pequeno numero. Nos cortes do intestino do coelho mais infectado, os ovos ainda eram bastante raros na submucosa e não havia signaes de eliminação. Em fezes de outros coelhos não encontrei ovos mesmo depois de tres mezes. É possivel que no homem as condições seja differentes, mas em relação a cobaias e coelhos, pode-se concluir que a eliminação dos ovos é um processo lento, que muitas vezes só se verifica bastante tempo depois de terem os vermes chegado ao estado adulto.

Algumas observações de pathologia humana e parte das experiencias de LEIPER parecem indicar que a eliminação dos ovos já foi verificada bastante cedo, cinco a seis semanas depois da infecção. Creio todavia que nos casos averiguados, tratava-se de infecções muito intensas e que o numero de ovos era muito inferior ao que se teria achado mais tarde.

Já depois de tres semanas, encontra-se os vermes quasi adultos nas veias mesentericas que geralmente estão muito congestas. As veias do figado contêm, na media, um numero egual. Depois de cinco semanas os orgãos sexuaes estão bem desenvolvidos; as femeas têm um ovo no utero. As dimensões variam consideravelmente, conforme os gráos de contracção muscular. Os exemplares que morreram lentamente nos tecidos do hospedador, estão inteiramente relaxados. Nem por isso, as dimensões são um pouco inferiores ás medidas dadas na litteratura antiga. Não creio que se possa attribuir isso á differença dos hospedadores, porque os vermes, encontrados em autopsias de pessoas infectadas, não eram distinctamente maiores; mas talvez a especie *mansoni* seja um pouco menor do que o *haematobium*, cujas femeas contêm muitos ovos, em vez de um só.

O intestino da femea costuma destacar-se muito bem, por estar cheio de massas enegrecidas, provenientes da digestão do sangue ingerido. (O mesmo se observa no macha em gráo menor). Em côrtes do figado, as femeas seccionadas transversalmente seriam pouco conspicuas, se não fossem caracterisadas pelo intestino, cortado em um ou dous pontos, conforme a região. Além deste, percebe-se tambem o lume dos canaes excretorios. O macho é mais caracteristico, devido a sua fórma e aos espinhos de sua pelle.

Symptomatologia da Schistosomatose.

Dispomos de varios methodos para determinar as manifestações da infecção com *Sch. mansoni*. Podemos estudar os homens (naturalmente) e os animaes (experimentalmente) infectados, verificando os symptomas subjectivos e notando as queixas dos doentes ou podemos principiar com as alterações anatomicas, macro-e microscopicas. Temos ainda um grande recurso no estado comparativo das lesões produzidas por outras especies de *Schistosomum* no homem e nos animaes domesticos. Aqui se destaca principalmente o *Schistosomum japonicum*, obser-

vado tanto no homem como nos animaes domesticos, em infecções muito intensas. Localisam-se geralmente nos mesmos orgãos e já foram bastante estudadas.

As observações mais antigas, feitas no velho mundo, podem ser utilisadas, mas somente com bastante reserva, visto que nelas se confundem symptomas produzidos por duas especies de *Schistosomum* e outros parasitos intestinaes, frequentes no mesmo lugar.

O parasitismo dos vermes adultos nas veias é geralmente bem supportado, de acordo com as leis geraes do parasitismo, o que é provado pelo facto que um coelho pode conter nas veias do mesenterio e do figado meio milheiro de vermes adultos, sem apresentar symptomas que chamem attenção. De outro lado LETULLE attribue ao parasitismo dos adultos processos endophlebiticos, observados em casos de longa duração.

Não conhecemos nos schistosomos adultos glandulas com secreçãc irritante ou toxica, mas é claro que os productos do seu metabolismo devem ser derramados no systema circulatorio do hospedador. Todavia devem ser logo diluidos e acarretados quando a circulação é livre como acontece nas veias maiores. Quanto ao sangue absorvido que constitue o unico alimento dos schistosomos, o volume total, em infecções moderadas, não é bastante grande para não ser facilmente substituido. Por isso a anemia não tem importancia para o diagnostico da infecção.

O povo, muitas vezes, attribue diarrheas ao parasitismo de vermes e alguns autores, entre estes GONZALES - MARTINEZ, consideram-nas como symptoma commum da infeção com *Sch. mansoni*. Na minha esperiencia não passam de complicações frequentes como em outras verminoses; é antes a prisão de ventre que se observa nos casos chronicos, o que aqui se explica pela sclerose do intestino. Nos casos recentes o numero das evacuações, geralmente, não é alterado.

JESUS RISQUEZ chamou attenção sobre pyrexias mal definidas e de origem incerta que se pode attribuir a uma infecção com *Sch. mansoni*. Tambem vi a autopsia de um individuo que tinha estes parasitos e succumbiu a uma pyrexia pouco caracteristica. Este assumpto merece ser investigado. Na infecção por *Sch. japonicum* já parece estabelecida que infecções agudas, quando intensas e recentes, podem produzir febre, muitas vezes acompanhadas de erupção que lembra a urticaria.

Ha um outro symptoma, mais frequente na minha experiencia e que se pode explicar, levando em conta observações anatomicas feitas em individuos infectados com *Sch. japonicum* e *M. pulmonalis*. Os nossos doentes frequentemente referem attaques de tontura que attribuo a embolias de vermes ou ovos destes.

Alguns doentes, que estavam no habito de tomar banhos prolongados em lagoas, referem ter sentido "coceira" depois. Duas das lagoas por nós visitadas têm mesmo o nome popular "Lagoa da Coceira". Se não se pode chamar este symptoma pathogenico, entretanto fornece uma boa indicação para reconhecer aguas infecciosas e desconfiar da penetração de cercarias. Que esta produz comichão pode se observar muito bem nas experiencias, feitas em ratos brancos.

Ha uma serie de symptomas (observados apenas em caso de infecção muito intensa ou continuada por muito tempo) que se referem ao intestino e ao figado e se explicam pelas lezões anatomicas, observadas nestes orgãos. Dependem todavia menos dos vermes que dos ovos, encalhados nos tecidos, como veremos na anatomia pathologica. Os symptomas hepaticos e intestinaes são realmente pouco caracteristicos e podem ser encontrados em muitas outras affecções, de modo que a sua sua importancia depende da exclusão de complicações ou molestias accidentaes, observadas em individuos infectados que, em muitos lugares, representam uma grande proporção da população. Podia-se tambem procurar demonstrar pela estatistica a maior frequencia de certos symptomas, mas neste ponto, entre nos, tudo é para fazer.

Mucosidades sanguinolentas podem ser attribuidas ao *Sch. mansoni*, se contêm maior

numero de ovos, faltando as amoebas. Ictericia, hepato – e splenomegalia, retracção do figado e ascite são symptomas suspeitos, quando não ha probabilidade de outra etiologia.

A eosinophilia é observada na schistosomatose como em outras formas de helminthiase, sem que o facto tenha muita importancia para o diagnostico, visto que o maior numero de doentes tambem tem outros vermes. Não e pelo exame do sangue, mas por aquelle das fezes, que se chega a obter a maior garantia do diagnostico, com unica excepção das infecções completamente recentes.

Os outros orgãos affectados não produzem symptomas claros. Nas primeiras phases da sua evolução os vermes provavelmente passam pela circulação pulmonar; observa-se manifestações pouco caracteristicas como sejam tosse e bronquite. O pancreas é muitas vezes compromettido; por isso convinha procurar indicios de aglycosuria, o que não tem sido feito de modo systematica.

Alem das tonturas pode-se observar em alguns casos perturbações nervosas que talvez dependam tambem da schistosomatose, como falta de memorias e de iniciativa, fraqueza de comprehensão e de raciocinio, periodos de apathia e mau humor etc.

Complicações e molestias consecutivas.

Numa molestia tão generalisada, como a infecção por *Sch. mansoni*, a coincidencia com outras molestias deve ser frequentissima. Assim ha casos de amoebiase que podem conduzir a abscessos hepaticos que a constatação de ovos não permitte attribuir aos vermes. Pode haver uma appendicite de outra etiologia num appendice infiltrado por ovos. Nos proprios symptomas que podem ser produzidos pelo *Sch. mansoni*, ás vezes, concorrem outras molestias como tuberculose, syphilis, alcoolismo e molestias cardiacas. Nas alterações intensas do recto, observadas frequentemente no Egypto, parece concorrer o *Sch. haematobium*. Haemorrhoides podem ser independentes ou consecutivas a cirrhose. Fistulas anaes parecem ser complicações ou devidas a infecções mixtas. Adenomas e papillomas, observados desde do intestino delgado até ao anus em frequencia crescente, podem ser uma consequencia de infecções intensas e antigas, mas a degeneração maligna destas lesões deve ser considerada uma complicação. Em casos chronicos a hemoptyse pode ser devido a outras causas.

De outro lado é provavel que o parasitismo do *Sch. mansoni* favorece complicações e molestia secundarias. Podemos tambem affirmar que elle indica a existencia de condições hygienicas que permittem a infecção não sómente com outros vermes, mas tambem com protozoarios e molestias causadas por bacterios.

Anatomia pathologia.

Os factos, que se ligam á infecção com *Sch. M.*, conhecem-se pelo exame anatomico macro – e microscopico, melhor do que pela observação durante a vida. O resultado destes nos permitte discutir certas questões que permanecem bastante obscuros.

Tratarei, em primeiro lugar, das observações feitas em animaes de experiencias, baseando-me em material meo.

Nos primeiros tempos das infecções artificiaes de coelhos, cobaias ou ratos brancos é dificil encontrar os schistosomos novos, evidentemente porque levam bastante tempo para chegar a seu habitat definitivo. O mesmo se observa em outras experiencias helminthologicas. Estados relativamente novos foram encontrados por LEIPER no figado de ratos brancos.

De tres semanas para diante pode-se contar com um resultado positivo. Abrindo o animal, percebe-se sem difficuldade no mesenterio transparente as veias cheias de sangue e nestes os machos contrastando por sua côr branca. Occupam as ramificações maiores desde do estomago ate o recto, sem preferencia da ultima parte. Esmigalhando o figado dentro de solução physiologica obtem-se um numero approximadamente egual de vermes. As femeas geralmente são encon-

tradas, em numero mais ou menos egual, no canal gynecophoro dos machos, mas abandonam este, se o exame fôr muito demorado.

Nos animaes recentemente infectados, as veias, posto que cheias de parasitos, não mostram alterações apreciaveis. O tecido visinho, o figado e o intestino não apresentam lesões macroscopicas.

O desenvolvimento completo com producção de ovos demora mais uma a duas semanas. Os ovos não apparecem immediatamente nas fezes, mesmo em infecções fortes, o que prova que o processo de eliminação é geralmente demorado.

Examinando os animaes depois de mezes pode-se encontrar as veias maiores vasias, mas córtes do figado e do intestino mostram machos e principalmente femeas isoladas em veias menores.

No figado as femeas são encontradas nas pequenas veias interlobulares, mais raramente em capillares dilatadas ou em pequenas arterias, nunca nas vias biliares ou no tecido glandular. Não ha reacção imflammatoria em redor dellas, mas os vasos parecem muito cheios de sangue. Os ovos, nos primeiros tempos, são muito mais raros que os cortes dos vermes. Em redor d'aquelles nota-se frequentemente nma infiltração com leucocytos. Em infecções intensas, já um pouco mais antigas, todo o tecido interstitial pode ser infiltrado com cellulas redondas, o que se pode considerar com o primeiro estado de um processo cirrhotico. As capillares parecem muito dilatadas.

No intestino acham-se os machos pertos da serosa; as femeas podem penetrar até á submucosa. Os ovos são encontrados em pequenos grupos na mucosa, na base das glandulas e isolados entre estas, mas raramente e sem indicação clara sobre o processo que os faz chegar até á superficie da mucosa. Em redor dos grupos de ovos ha sempre uma infiltração que lembra um tuberculo. Cellulas gigantes formam-se exclusivamente em redor e por dentro de cascas vasias. Cellulas eosinophilas podem ser encontradas no tecido e nos vasos.

Qando a infecção fôr mais antiga, os ovos podem tambem ser numerosos na submucosa.

Sobre as lesões, observadas no homem, ha uma litteratura bastante extensa. A parte mais antiga não distingue entre as duas especies, encontradas na Africa, e tanto esta, como a mais moderna, referem-se de preferencia a casos que vieram a fallecer, depois de terem sido infectados durante muite anos. Nestes casos os vermes eram raros ou faltavam nos cortes. O que predomina são as lesões causadas pelos ovos retidos e accumulados em quantidade, muitas vezes, fabulosa. Da adição constante de pequenas lesões sem maior importancia resultam finalmente alterações extensas e graves das visceras mais attacadas.

Para os estados anteriores o material e mais raro. Todavia tenha elementos para reconstrui-los, approveitando observações proprias e outras contidas na litteratura do assumpto.

As unicas alterações evidentes, observadas por mim em infecções poucas intensas ou mais recentes, eram tumor do baço e infiltração medullar dos ganglios mesentericos, ambos communs em outras molestias. Os vermes não apparecem nos vasos do mesenterio e o melhor lugar para procural-os é no tronco e nas ramificações intrahepaticas da veia da porta.

Em infecções mais intensas e antigas observam-se alterações do figado que podem parecer-se com cirrhoses hyper— e atrophicas e causar ictericia e ascite. O baço, que, geralmente, não é sede directa de vermes e ovos, pode ser hypertrophico ou pequeno. O peritoneo e os ganglios lymphaticos podem ser compromettidos na visinhança dos orgãos lesados. Dos outros orgãos apenas o intestino apresenta lesões evidentes. São principalmente uma sclerose geral, mais ou menos, accusada, e alterações da mucosa, ambas localisadas principalmente no recto e diminuindo em direção ascendente. A differença de localisação, observada no homem e nos animaes domesticos, explica-se em grande parte pelos effeitos da gravitação.

— 140 —

Quanto ás alterações microscopicas, encontradas nos orgãos, poude verifica-las em material daqui e da Venezuela (mandado por J. RISQUEZ) e compara-las com material muito bom de infecção por *Sch. japonicum* que recebi dos Prof. CROWELL (visceras humanas das Philippinas) e ASKANAZY (figado de cavallo e boi infectado). Estas infeções, muito intensas, mostram bem as lesões analogas.

Em pessoas, que soffrem de infecção por *Sch. M.* desde dos primeiros annos da vida, o numero dos vermes pode ser pequeno, em comparação com o grande numero de ovos que se accumularam nos tecidos, sem a menor probabilidade de sahir de lá durante a vida do hospedador. São encontrados principalmente na parede intestinal e no figado, mas existem, posto que em numero menor, tambem em outros orgãos como sejam o mesenterio e as suas glandulas lymphaticas, o pancreas, o pulmão e o cerebro. Como tambem os ovos do *Sch. japonicum*, são frequentemente encontradas no tecido interstitial das visceras, no meio de um tecido fibroso, sem infiltração cellular; podem ser mais ou menos calcificados, o que indica uma longa permanencia. São estes depositos que produzem a sclerose que se nota principalmente na ultima parte do tubo intestinal e no figado. Neste observa-se, ás vezes, uma especie de cirrhose com ou sem splenomegalia, ictericia e ascite.

A sclerose intestinal difficulta a funcção do intestino e produz prisão de ventre. É localisada, principalmente, no recto, mas vae muito mais para cima, porque ha varios exemplos de appendices espessados e infiltrados por ovos. Pode estender-se ao intestino delgado, mas as suas lesões geralmente não chamam a attenção do observador.

As lesões macro- e microscopicas do intestino foram minuciosamente estudadas por LETULLE num caso de Martinica, certamente infectado apenas com *Sch. mansoni*, posto que o autor falle tambem, aliás de um modo vago, em ovos com espinho terminal. Os processos que elle encontrou estão de accordo com as descripções de outros autores que observaram casos especialmente graves. Parte delles pode ser verificada em casos mais leves. Na infecção com *Sch. japonicum* que frequentemente são de grande intensidade, encontram-se lesões muito parecidas.

LETULLE descreve ulcerações superficias da mucosa que se distinguem daquellas produzidas pelas amoebas. Em outros lugares ha uma proliferação que conduz a tumores polypoides e pedunculados com caracter de adenomas. Podem ser atravessados por um eixo fibroso e a superficie pode ser ulcerada.

As glandulas de LIEBERKUEHN podem ser destruidas por ulceração, atrophia e dilatação cystica, seguida de suppuração, ou tornar-se hypertrophiadas ou hyperplasticas. O epithelio mostra as alterações correspondentes, sem todavia entrar em proliferação atypica.

O tecido interstitial da mucosa tambem prolifera, ás vezes extraordinariamente. As capillares podem aparecer muito numerosas e dilatadas. No processo de hypertrophia, o tecido intersticial pode afastar as glandulas e alargar-se na superficie da mucosa, abaixo do epithelio quando este não fôr destruido. Nunca se observa hemorrhagias intersticiaes, nem depositos de pigmento.

A muscular da mucosa não é attingida pela ulceração e não mostra alterações, alem de uma hyperplasia.

A submucosa transforma-se gradualmente em tecido esclerotico com desapparecimento das cellulas adiposas.

As camadas da *muscularis propria* não mostram alterações, a não ser uma hypertrophia geral, verdadeira ou apparente.

A serosa era tambem esclerosada no caso de LETULLE, mas faltavam os depositos parasitarios, observados em outros casos.

Os vasos lymphaticos, alem de uma infiltração cellular perto dos focos de inflammação e ulceração, não se mostram alterados e geralmente não são aproveitados para a migração dos vermes e dos ovos. Os folliculos lymphaticos não participam no processo parasitario. Os nervos e ganglios tambem não mostram lesões.

As veias (com excepção dos trechos que passam pelas camadas musculares) mostram um processo especial e caracteristico de endophlebite vegetante que pode chegar a ser obliterante. A cavidade restante das veias e geralmente excentrica, porque a lesão se limita a um lado da intima. O processo se estende tambem ás veias do mesenterio e até ás veias da bacia que não fazem parte da circulação portal. Aqui nota-se tambem uma hyperplasia da media.

Postura e migração dos ovos.

As questões que se impoem, são: Como é que os ovos chegam ao tecido extravascular e como podem apparecer nas dejeções dos hospedadores? Estas questões que, na verdade, são de solução difficil, não parecem ter incommodado a maioria dos autores. Declaram, seguindo LETULLE, que as femeas procedem nas pequenas veias até um ponto onde enchem completamente o calibre diminuido e que lá depositam os ovos dentro dos vasos. Estes ovos, devido a pressão aumentada pela occlusão da veia, penetrariam pela parede vascular e de lá se encaminhariam para os differentes pontos onde são encontrados. Os ovos, observados no pulmão, cerebro etc., seriam carregados pela torrente circulatoria.

Qual será a força que impelle estes ovos, elementos relativamente grandes e sem movimento proprio, a progredir nos tecidos? Aqui os autores certamente tinham em vista os ovos com espiculo terminal que podia facilitar o progresso numa direcção, em quanto que o outro polo, completamente rombo, impediria o movimento retrogrado. Mas a espicula lateral não pode favorecer o progresso e, quando muito, pode oppor-se a todos os movimentos, em que o polo inerme não vae na frente. E o ovo do *Sch. japonicum* nem espiculo tem. É verdade que se descreveu um espinho minusculo, mas este geralmente não é terminal e falta muitas vezes, tanto nas preparações feitas com dejecções, como nos cortes dos tecidos. Parece ser pouco constante. A ponta é muitas vezes recurvada e geralmente não é muita aguda.

Ninguem parece se ter lembrado que seria muito mais facil para o verme, perfurar ou usar a parede vascular e passar por ella, senão com todo o corpo, pelo menos com a parte anterior; todavia, a posição da abertura genital e a analogia com outros entozoarios falla muito mais neste sentido. A propria endophlebite obliterante (que não ocupa geralmente todo o contorno da veia) parece indicar uma lesão localisada.

A verdade é, que o processo da oviposição não se deixou surprehender nas preparações, a julgar pela litteratura e pelas observações proprias, feitas por mim em bastante material, mas o mesmo se pode dizer da postura nas veias.

Comprehende-se mais facilmente que os ovos, tão frequentemente observados na base da mucosa, possam ser dirigidos para a superficie, posto que a circulação venosa e lymphatica não favoreçam este processo. A eliminação, na regra, me parece ser feita no tecido molle que se acha entre as glandulas de LIEBERKUEHN, e não por estas; a unica força motriz que pode explical-a, é a renovação deste tecido que deve se fazer no mesmo sentido. Nunca se observa um processo de suppuração que poderia explicar a eliminação e, quando ha ulceração, esta é completamente superficial.

Não posso adherir á opinião de LETULLE que pensa que as glandulas de LIEBERKUEHN, dilatadas e, ás vezes, suppuradas, possam servir para eliminar ovos e embryões. Tão pouco posso adimittir que os ovos vivos tenham todos passado pelos adenomas verrucosos ou polypoides que se encontram na mucose em casos velhos. Estes, mais provavelmente, fornecerão os ovos degenerados e calcificados que abundam nas dejecções de certos casos.

Quanto aos ovos, depositados na submucosa e debaixo da serosa intestinal, no figado, pancreas, baço, pulmão e cerebro, a maior parte não pode chegar ao ambiente em estado vivo, senão no caso da morte do hospedador. Accumulam-se nos tecidos onde são encontrados com maior frequencia e, depois de produzir por breve tempo uma reação in-

flammatoria, ficam presos por dentro de um tecido connectivo cicatricial, sem signal de reação. Sobrevem a calcificação depois de um periodo indeterminado, mas provavelmente sempre muito longo; talvez indique a morte definitiva do ovo.

Não me consta que ovos vivos tenham sido achados na bile ou no succo pancreatico. Examinei algumas vezes o conteúdo da vesicula biliar com resultado sempre negativo. Nos cortes, os ovos nunca aparecem nos canaliculos biliares.

Conhecemos outros parasitos que depositam os seus ovos em visceras. Ha principalmente um *Trichosomum* cujos ovos são muito communs no figado dos ratos domesticos e já por varias vezes foram confundidos com coccidios. Neste caso, não ha a menor duvida que o verme mesmo deposita os ovos, morrendo depois no mesmo lugar. Os ovos só chegam ao ambiente, se o hospedador fôr comido ou morrer de outro modo.

Ao lado de ovos, apparente vivos, mas pouco desenvolvidos, e outros calcificados, não é raro eocontrar cascas vasias, das quaes deve ter escapado um embryão, como indica a forma e posição typica da abertura e a formação de cellulas gigantes. Estes ovos são encontrados em varias situações e não sómente perto das glandulas de LIEBERKUEHN, como se podia deduzir da descripção de LETULLE, que considera o escapamento do embryão pela cavidade destas glandulas como um meio normal da propagação da infecção. Convem dizer que nem elle, nem outros autores conseguiram surprehender um embryão livre nas preparações. Pelas minhas observações é muito duvidoso que embryões que por ventura sahem dos ovos nos tecidos, consigam sahir do intestino em estado vivo; mesmo assim pereceriam logo, se as dejeções não chegavam sem muita demora em contacto com agua. Não acredito que o facto, aliás raro, do embryão abandonar a casca do ovo, ainda nos tecidos, tenha qualquer vantagem para a propagação da especie, mas nem por isso, é muito notavel e difficil de explicar.

Em todos os casos pode-se affirmar que na schistosomatose, como em muitas outras affecções verminosas ha um enorme desperdicio de ovos, que aqui nem é compensado por uma grande producção. A verdadeira compensação e fornecida pela extraordinaria multiplicação no organismo do caramujo infectado.

A eliminação de ovos maduros, intimamente misturados com as dejecções e não accompanhados de mucosidades e de sangue, é o que se observa na grande maioria dos casos. Esta eliminação (que é constante e assegura a conservação da especie) indica que ha um processo relativamente rapido e seguro que conduz os ovos por fora do organismo infectado, sem produzir lesões apreciaveis, e assim se explica, como esta infeção facilmente passa desapercebida.

Prognostico, therapeutica e prophylaxe de Schistomatose.

Das nossas observações anteriores já se pode deduzir que a schistosomatose, observada entre nos, é de natureza bastante benigna. GONZALES-MARTINEZ estima em 45 % a proporção de infectados que não apresentam symptomas accusados e creio que, entre nos, a proporção dos casos que passam completamente desapercebidos, seja antes maior do que menor. De outro lado não é certo que o processo parasitario possa ser curado ou melhorado por meios therapeuticos e tenho observações que indicam que os vermes podem permanecer vivos no corpo humano durante muito annos. Assim é a prevenção e não a cura que deve formar o objecto principal dos nossos cuidados.

A infecção sempre se produz por meio da agua, seja que esta sirva para bebida ou que venha em contacto com o tegumento externo. Sendo a existencia de *Planorbis* nella a *conditio sine qua non* da infecciosidade, é claro que a prophylaxia mais natural deverá, em primeiro lugar, ser dirijida contra este hospedador intermediario. Limpando os reservatorios ou caixas d'agua, quer dizer retirando a lama e a vegetação aqua-

tica e apanhando os exemplares que vêm a tona, pode-se livrar as aguas deste molluscos, mas, precisamente lá onde o perigo é maior, estas medidas serão impossiveis ou pouco praticas.

Ha outras medidas que tendem a evitar a infecção dos caramujos; bem applicadas fariam no mesmo tempo desapparecer a oppilação (que é mais generalisada e mais perigosa que a schistosomatose). Consistem em evitar a contaminação do solo e das aguas por excrementos humanos. É claro, que esgotos que despejam em rios, usados para banhos e lavagem de roupa, não correspondem a este quesito.

Na necessidade de usar agua suspeita, é sufficiente que esta seja guardada durante 24—48 horas, para perder o poder infectante. De manhã cedo ha pouca probabilidade que a agua contenha cercarias activas, de modo que esta, tirada pouco abaixo da superficie e guardada mais algumas horas, certamente perderá o poder infeccioso. Este naturalmente é destruido tambem pelo aquecimento (que não precisa chegar ao ponto de ebullição ou por desinfectantes. Segundo LEIPER basta levar a agua a 50° ou juntar uma gramma de bisulfato de sodio para um litro de agua.

Perigo dos banhos em aguas estagnadas.

Os *Planorbis* encontram-se em lagôas ou aguas fluviaes, mais ou menos, estagnadas, não sujeitas a dessicação completa e geralmente caracterisadas por vegetação aquatica fixa ou fluctuante. Estas aguas, quando ingeridas, são perigosas, mas por causa da natureza são menos usadas para beber. O contacto com a pelle nua dos braços e pernas, por exemplo na occasião de pescar ou lavar roupa, pode facilmente produzir infeções mais ou menos intensas, mas o perigo maior está na immersão completa do corpo na occasião de banhos um tanto prolongados, porque as probabilidades de infecção crescem em relação com a superficie exposta e o tempo de exposição. Assim o habito de banhar-se diariamente nestas aguas infeciosas poderá produzir infecções muito intensas. Os observadores de hoje são quasi unanimes em responsabilisar a infecção cutanea pelo maior numero das infecções observadas. Já verifiquei a historia de varios doentes que costumavam banhar-se em aguas paradas com vegetação aquatica onde havia aruás *(Ampullaria)*. Este mollusco que, por seu maior tamanho e por ser comestivel, attira mais a attenção, pode servir de indicador para aguas suspeitas. Alguns doentes até tinham reparado a existencia de numerosos *Planorbis*. Em alguns lugares, como em Aracajú, estes são tão abundantes que são usados para alimentação dos porcos, nas occasiões em que as aguas baixam. Tanto em Aracajú como em Laranjeira ha uma lagôa chamada *da coceira*, porque os que lá tomam banho, sentem coceira depois. Ora esta coceira (como se verifica em varios animaes e principalmente no rato branco) é symptoma caracteristico da penetração dos schistosomos.

Para os banhos se tornarem perigosos, é preciso que sejam as aguas contaminadas com ovos de *Schistosomum*, provenientes do intestino de homens ou animaes infectados. Esta contaminação pode ser continua ou apenas occasional, devida a chuvas e inchentes. Tambem é precisa que nestas aguas haja caramujos infectaveis. Dada uma temperatura bastante elevada, bastam então 4—5 semanas para que haja caramujos infectados e capazes de fornecerem cercarias durante dous a tres mezes, de modo que, com uma infecção bimensal, as aguas seriam sempre suspeitas.

A experiencia prova que as cercarias não sahem a qualquer hora. De manhã cedo custa observar um exemplar em agua que contem caramujos infectados, quando de tarde, depois de algumas horas de insolação activa, são abundantissimos. Assim um banho curto de manhã quasi não offerecerá perigo, quando um banho demorado, durante ou depois das horas mais quentes, favorecerá extraordinariamente uma infecção multipla. A estação secca, com a sua insolação muito maior, deve trazer diminuição de agua, com aumento de sua

temperatura, de modo que as infecções serão acqueridas principalmente neste tempo.

Bibliografia.

A litteratura sobre os schistosomos e os effeitos do seu parasitismo é muito extensa. Só o relatorio de LEIPER enumera 562 trabalhos (alphabeticamente), sem incluir os mais recentes. Outros autores deram listas que incluem mais alguns títulos. Aqui só cito os trabalhos que mais estreitamente se referem a meu assunto, principalmente aquelles que foram citados ou estudados. Não menciono a maioria dos tratados de helminthologia, molestias tropicaes e de medicina geral por serem bastante conhecidos ou dispensaveis.

A bibliografia do *Sch. japonicum* é mais extensa porque se trata de um assunto moderno e estreitamente ligado ao nosso. De facto o *Sch. mansoni* e o *japonicum* produzem symptomas muito semelhantes, mas no caso do *japonicum* o estudo é mais facil, por serem as infeções geralmente mais puras, mais agudas e mais intensas. Assim o seu estudo é de grande utilidade.

I

Schistosomatosis humana, observada na Africa ou de origem africana.

SIEBOLD, C., 1852 – Ein Beitrag zur Helminthographia humana. Aus briefl. Mitth. d. Dr. Bilharz. – Zeitschr. f. wiss. Zool., H. 1, pg. 53, Bd. 4.

BILHARZ TH., 1853 – Fernere Mittheilungen ueber Distomum haematobium. – Ibidem, H. 4, pg. 454.

KARTULIS., 1885 – Ueber das Vorkommen der Eier des D. haematobium Bilharz in den Unterleibsorganen. – Virchows Arch. Bd. 99, pg. 139.

LEUCKART R., 1886 – Die Parasiten des Menschen etc. Zweite Aufl., Ad. 1, Abth 2.

HILL, B., 1888 – Clinic. lect. on haematuria. – Brit. med. Journ., V. 1, pg. 199.

FRITSCH., 1888 – Zur Anatomie der B. haem. – Ztschr. f. mikr. Anatomie, Bd. 31, pg. 192.

BROCK, G, S., 1893 – On the anat. and physiol. of the ovum of Bilh. haemat.-Lancet, Sept. 1893, pg. 622 – 625.

SONSINO P., 1893 – B. haem. and B. Disease. – Davidson, Hyg. a. Dis. of w. Climates, pg. 90.

BROOKS, 1897 – A case of D. haemat. – Medical Record 1897, pg. 492.

GOEBEL, 1903 – Clin. a. pathol. Observ. on B. Disease. – Journ. of trop. Med., pg. 106.

FREEMAN., 1905 – Journ. of the R. Army med. Corps, Vol. V, pg. 145 (278).

GOEBEL, 1909 – Die patholog. Anatomie der Bilh. – krankh. – Berl. klin. Wchnschr., pg. 107.

RUFFER M. A., 1910 – Note on the presence of Bilharzia haematobia in Egyptian mummies of the 20th dynasty (1220 – 1000 B. C.). – Brit. Med. Journ. Vol. 1 pg. 16.

JOYEUX, 1912 – Notes sur quelques cas de Bilharziose, obs. à Kouroussa, Guinée fr.-Bull. de la Soc. de Path. Ex. Vol V.

BOUR E. F., 1912 – On num. cases.... with a contr. to the study of Bilharziosis in Mauritius. Journ. of trop. Med., Vol. X n. 10 pg. 148.

ARCHIBALD, R. G., 1914 – Intest. Schistosomiasis in the Sudan. Brit. med. Journ. pg. 297.

ARCHIBALD, R. G., 1914 – Treatment by autogenous vaccines. Trop. Dis. Bull. V. III n. 6, pg. 202; VI pg. 202.

CONOR, A., 1914 – Essai de la transmission de la Bilharziose. – Bull. de la Soc. de Path. Ex. – T. Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis. T. IX, F. 1.

CHENHALL, W. T., 1915 – B., compl. by adenocarcinoma... Med. J. of Austr., Vol. 2, n. 16, pg. 339.

LEIPER, R. F., 1915 – Report on the results of the B. Mission in Egypt. – Journal of the Royal Army Med. Corps, pg. 2–55, 148–192, 253–267. To be continued.
1916 – Ibidem, Vol. XXVII, pg. 171.
1918 – Ibidem, Vol. XXX, pg. 235.

CAWSTON, F. G., 1915 – Schistosomiasis in Natal. – Journ. of trop. Med., n. 22, Nov. 1915.

CAWSTON, F. G., 1916 – Schistosomiasis in Natal. – South Afric. Med. Rec., Vol. XIV, n. 4, pg. 53.

CAWSTON, F. G., 1917 – The cause and effects of Bilh. Dis. in South Afric. Egypt and the Far East. – South Afr. Med. Rec., Vol. XIV, n. 11, pg. 163.

LAWTON, F. B., 1918 – The early symptomis following infection by *Sch. M.* – J. R. Army Med. C. XXXI, n. 6 pg. 472.

II

Schistosomum haematobium na Asia.

HATCH, Y. K., 1887 – B. haemat. – Lancet, April, pg. 875.

STURROCK, P. S., 1899 – B. in Mesopotamia. – Brit. Med. Journ., pg. 1543.

SEWELL, E. P., 1903 – B. in India. – Ibidem, pg. 490.

SEWELL, E. P., 1904 – Case of B. haem. – Journ. of the R. Arm. Med. Corps, Vol. 2, pg. 346.

SCOTT, J., 1904 – B. haem. in Persia. – Brit. Med. Journ. 1, pg. 725.

WARDROP, D., 1906 – Report on five cases of B. – Journ. of the R. Arm. Med. Corps, V. 7, pg. 282.

HOOTON, A., 1914 – A case of B. Diasease. – Ind. Med. Gaz., pg. 188.

MILTON, F., 1914 – Does B. exist in India ? – Ibidem, No. L. (Trop. Dis. Bull., V. 3, pg. 289).

III

Schistosomum Mansoni, observado na America ou de origem americana.

MANSON, P., 1902 – Journ. of trop. Med., Dec. 15.

MANSON. P., 1903 – Tropical. Medicine. – Ibidem 1905 e 1907.

GONZALEZ MART., 1904 – La Bilharziosis en Puerto Rico.

LETULLE, M., 1905 – Bilharziose intest. – Arch. de Paras., Vol. 9, pg. 329.

SAMBON, L., 1907 – Journ. of trop. Med. X, pg. 117 & 303. – Idem XI, pg. 31, 1908.

HOLCOMB, R. C., 1907 – The West Indian Bilharziosis in its relat. to Sch. M. – U. S. Naval Med. Bull. Vol. 1, No. 2.

— 146 —

PIRAJÁ DA SILVA, M., 1908 – Contribuição para o estudo da Schistosomatose na Bahia. – Brasil Medico, pg. 281, 441 & 415.
PIRAJÁ DA SILVA, M., 1908 – La Schistosomose à Bahia. – Arch. de Paras., Vol. XIII pg. 451.
PIRAJÁ DA SILVA, M., 1909 – Contribution to the study of Schistosomiasis in Bahia. – Journ. of trop. Med., Nº. 11.
LOOSS, A., 1908 – What is "Schistosomum Mansoni" Sambon 1907 ? – Annals of trop. Med. and Parasitology, Vol. II, Nº. 3 and repr.
SAMBON, L., 1909 – What is Schistosoma Mansoni ? – Journ. of trop. Med. pg. 111.
NOC, F., 1910 – La bilharziose à Martinique. – Bull. Soc. Path. exotique, Vol. III, pg. 26. Paris, 1910.
FLU, P. C., 1911 – Beitrag zur Loesung der Frage, ob Sch. M. identisch ist mit Sch. haem. – Centralb. f. Bakt., Abt. I, Bd. 61, pg. 389.
GONZALEZ MART., 1916 – Invest. on the preval. and clin. feat. of Int. B. (Sch. M.) in Porto Rico. N. Orl. Med. Journ. Vol. 9, Nº. 5.
LEIPER, R. F., 1916 – On the relation between the terminal-spined and lateral-spined eggs of Bilharzia. – Brit. Med. Journ., Nº. 2881, pg. 411.
RISQUEZ, J. R., 1916 – Apuntes sobre la Bilharziosis em Venezuela. – Caracas.
IDEM, 1917 – Febres prolongadas etc. – Vargas (Caracas), Nº. 6.
IDEM, 1917 – B. hepatica com ictericia. – Ibidem Nº. 7.
IDEM, 1917 – Docum. p. el diagn. clinico de la B. – Ibidem Nº. 9.
IDEM, 1917 – B. apendicular. – Ibidem Nº. 12.
IDEM, 1917 – Observ. ac. de la dissem. de los huevos etc. – Ibidem Nº 14.
IDEM, 1917 – Nota prel. de la B. puls. Ibidem Nº. 15.
IDEM, 1917 – Nota s. la coex. de L. lesiones pleuro-pulm. etc. – Ibidem Nº. 17.
HURTADO, B. P., 1917 – Hepat. produc. p. el Sch. M. – Ibidem Nº 9.
IDEM, 1917 – Hepatitis produc. p. el Sch. M. – Ibidem Nº. 17.
ITURBE JUAN, 1917 – Distr. y prof. de la B. em Caracas. – Ibidem Nº. 6.
IDEM & GONZALEZ., 1917 – El huesped int. del Sch. M. – Ibidem Nº. 8.
POU R. PINO, 1917 – Form. clin. de la B. – Ibidem Nº. 12.
LEGER, M., 1917 – Schistosomum mansoni Sambon à la Guyane Française – Bull de la Soc. de Path. Exot. T. X, Nº. 6 pg. 464.
ALMEIDA, ELP. de., 1919 – Contrib. ao est. da Schistosomose Mansonica. – These. – Rio de Janeiro, 1917.
CORT, W. W., 1919 – Notes on the eggs and miracidia of the human Schistosomes – U. of California Publ. in Zool. Vol. 18, Nº. 18, pg. 509 – 519. (Jan. 4th.)

IV

Schistosomum japonicum.

KATSURADA, 1904 – Annotat. Zool. Japan., Vol. V, pg. III, 1904.
CATTO, J., 1905 – Sch. Cattoi, a new blood fluke of man. – Br. Med. Journ. Nº, 2.
LOOSS, 1905 – Sch. japon. KATS. – Centralbl. f, Bakt., Origin., XXXIX, p. 280.
SCHEUBE., 1905 – Ein neues Sch. b. Menschen. – Arch. f. Schiffs – u. Trop. – Hyg. IX, p. 150.

BEVER, 1905 – Am. Med., X, p. 575.
STILES, 1905 – Ibidem, LX, p. 821,
WOOLLEY, 1906 – The ocurrence of Sch. jap. in the Philippines. – Phil. Journ. of Sc., I, No. 1.
TSUCHIYA. 1908 – Ueb. e. neue par. Krankh. (Sch. jap.) – Virch. Arch. CXCIII p. 323.
MANSON, P., 1908 – Sch. jap. in a European. – Journ. of Trop. Med., Nov. 16.
PEAKE, E. C., 1909 – Three cases of infect. by Sch. jap. – Ibidem, March.
KATSURADA., 1910 – Bemerkungen z. Lebensgesch. d. Sch. jap. – Centralbl. f. Bakt., Origin., LIII, Febr.
LAMBERT, 1910 – Transact. of Soc. of trop. Med. and Hyg., March and April and March 1911. LIII, p. 519.
HASHEGAWA, J., 1910 – Bemerk. z. Lebensgesch. d. Sch. jap. – Centr. f. Bakt.
SKINNER, 1910 – Inf. by Sch. jap. – Journ. of trop. Med. May 1.
LOGAN, 1911 – China Med. Journ. March. (Sch. j. – dys. in an Am. child).
WILLS, 1911 – Ibidem, March.
LEIPER, 1911 – Note on the pres. of a lat. spine in the eggs of Sch. j. – Transact. of the Soc. of trop. Med. March.
LAMBERT, 1911 – Schistosomiasis and urticarial fever. Ibidem, Oct.
THOMPSON, 1911 – Hankou Reports Annual.... Ed. by Douglas Gray, Brit. Legat. Pekin (2d Ser. for 1911.)
LAMBERT, 1912 – Notes on early stages of an infect. with Sch. j. – Journ. London school of trop. Med. I, No. 2, p. 145.
BASSETT-SMITH., 1912 – Sch. j. infect. in a Europ. – Trans. Soc. trop. Med. n. 6, p. 219.
YONEJI, MIAGAWA., 1912 – Ueber den Wanderungsweg des Sch. j.... Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. LXVI, p. 406.
IDEM, 1913 – Ueb. d. Wanderungsweg d. Sch. j. d. Vermittl. d. Lymphgefaessyst. – Ididem, LXVIII, H. 2.
IDEM, 1913 – Bezieh. zw. Sch. j. u. d. Dermatitis.... Ibidem, LXIX, H., p. 132.
MIYAIRJ & SUSUKI., 1912 – On the developm. of Sch. j. – Tokio Med.
IDEM, 1914 – Idem, D. Zwischenwirt d. Sch. j. K. – Mitt. a. d. med. Fak. d. Univ. Kyushu Fukuoka, Jap. I, Verl. i. d. Univ.
MYAKAWA Y., 1913 – On the nutrit. of the eggs of Sch. j. – The Sei-I-Kwai Med. Journ. XXXII, No. 2.
KATSURADA., 1913 – Sch. j. – Centr. F. Bakt. Abth. I, p. 363.
LANING, 1914 – Sch. on the Yangtze river. – U. S. Nav. med. Bull. Jan.
BROAIRD, D. & C. R., 1914 – Sch. j., a clin. & path. study of 2 cases. – Am. J. Med. Sc., V. 148, No 2, p. 187.
LEIPER & ATKINSON., 1915 – Obs. on the spread of As. Sch. with a note on Katayama nosophora by Robson. – Br. Med. Journ., Jan. 30th. No. 2822.
LEIPER, R. F., 1915 - Report on the results of the B. Mission in Egypt. Journal of the Royal Army Med. Corps, pg. 2 – 55, 148 – 192, 253 – 267. To be continued.
1917 – Ibidem, pg. 171.
1918 – Ibidem, pg. 232.
MANN, W. L., 1917 – Some Pract. Aspects of Sch. as found in the Orient. – Journ. Am. Med. Ass. LXVII, p. 1366 and reprint.

— 148 —

LAWTON, F. B. 1918 – The early symptoms following infection by Sch. M. – J. R. Anny Med. C. XXXI, Nº 6 pg. 472.

CORT, W. W., 1919 – The cercaria of Sch. yaponicum Katsurada. – U. of California Publ. of Zool. Vol. 18 n. 17 pg. 485 – 607 (January).

V

Schistosomos dos animaes domesticos.

SONSINO P., 1876 – Int. a un n. par. del Bue. . – Rend. dell. Acc. . . . di Napoli XV p. 34.

GRASSI & ROVELLI 1888 – La B. in Sicilia. – Rend. d, R. Acc. dei Linc. IV.

SANFELICE & LOI., 1888 – Di alcune inf. . . . in Sardegna. – Gagliari.

BARBAGALLO, P., 1899 – Contr. allo stud. della B. crassa in Sicilia. Arch. de Paras. 88, p. 277.

MONTGOMERY, R., 1906 – E. – Journ. of trop. Vet. Sc, XV, pg. 147.

VRYBURG, A. 1906 – Centralbl. f. Bakt., Orig., XLIII, p. 806.

LEESE, A. S., 1911 – B. in the Camel. – Journ. of trop. Vet. Sc., VI. p. 263.

SKRJABIN, K., 1913 – Sch. Turkestan., n. sp., ein n. Paras. d. Rindes a. Russisch Turkestan. – Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere, XIII, p. 407.

GLEN-LINSTON & SOPORKAT, B. 1918 – B. am. anim. in India. Life-Cycle of Sch. spindal, in Plan. in Bombay. – Ind. Journ. of Med. Res., V, Nº. 4, April.

VI

O genero Schistosomum e outros alliados.

ODHNER, T., 1913 – Z. Natuerl. Syst. d. dig. Tremat. – Zoolog. Anz. XLI, p. 54.

VII

Bibliografia.

STILES & HASSAL, 1908 – Index to Catal. of Med. & Vet. Zool. Gor. Print. O., Washington.

Notas.

1. Para o meu estudo aproveitei a litteratura helminthologica e malaco-zoologica que possuo ou encontrei nas bibliothecas do instituto e do Museu Nacional. Grande parte desta só chegou a meu conhecimento no fim dos meus primeiros estudos, começados no segundo trimestre de 1916 e publicados no Brasil-Medico em communicações preliminares. A parte historica e geographica foi compilada desta litteratura. Tudo o que se refere ao desenvolvimento do parasito foi verificado de modo completamente independente e geralmente muitas vezes, servindo estas observações pessoaes, acompanhadas de desenhos orijinaes, para base da minha exposição. Onde o caminho já era trilhado pela comissão, chefiada por LEIPER, as minhas observações concordaram em todos os pontos essenciaes; na parte que se refere exclusivamente ás condições do Brazil, são orijinaes.

Os córtes em serie, usados neste trabalho, correspondem a mais de 50 peças e foram geralmente feitos e corados no laboratorio de anatomia pathologica, dirigido pelo Dr. OSCAR D'UTRA e alguns pelo Dr. TRAVASSOS deste Instituto. Foram examinados por mim como todas as outras preparações que, não precisando de inclusão, foram feitos no meu laboratorio. Os doentes que forneceram o material para as numerosas infecções artificiaes de caramujos, feitas no meu laboratorio, foram mandados pelo Dr. OSWINO PENNA que tinha verificado a infecção.

Os *Planorbis olivaceus* empregados nestes estudos foram buscados em Aracajú pelo empregado THEOPHILO MARTINS ou mandados da Bahia pelos Drs. PIRAJÁ e OCTAVIO TORRES. Dos molluscos daqui obtive alguns por intermedio do Prof. CARLOS MOREIRA; a maior parte foi cólleccionada por mim ou por empregados do Instituto. Para estudos sobre os molluscos de agua doce comparei as collecções dos museus do Rio de Janeiro e de São Paulo.

Os meus estudos occuparam grande parte do meu tempo durante mais de dous annos sendo todavia muitar vezes interrompidos por falta de material. Foram facilitados pelo apoio dos directores do Instituto, Drs. OSWALDO CRUZ e CARLOS CHAGAS. A estes collegas e os outros já citados agradeço cordialmente os serviços prestados.

Em 1917 o trabalho já estava quasi completo, mas a publicação foi demorada, afim de apresentar o trabalho com as illustrações em comferencia no Congresso Medico que teve lugar no Rio de Janeiro em Outubro de 1918. Esta conferencia, accompanhada de projecções, foi realisada diante de um auditorio já bastante reduzido pela explosão de uma epidemia de influenza.

Depois deste periodo houve somente algumas addições em relação á litteratura sendo as estampas já concluidas.

2. De *Schistosomum* derivo a palavra portugueza *Schistosomo* (com o mesmo direito como quando se diz schisto e schisma) em vez de esquistosomo. Quanto á pronuncia, prefiro usar a que se usa nas linguas mais importantes dando a *sch* a pronuncia que se dá em allemão e que corresponde ao *ch* francez e a *sh* inglez. Tambem acho desnecessario dizer *esporocystos* e *esporozoarios*, em vez de *sporocysto* (em analogia ao nome geographico Sporadas) conformando-me á etymologia e o uso das outras linguas.

De *Schistosoma* deriva-se naturalmente *Schistosomatose* e *Schistosomatiasis*. *Schistosomose* e *Schistosomiasis* são certamente termos incorrectos, porque a palavra com terminação grega deve ser formada pelas regras do grego. O termo mais curto, em analogia a trypanosomiasis, póde ser *desculpado* por motivos de brevidade e por ser vulgarisado, mas nunca será o *correcto* como parece pensar Dr. ELPIDIO DE ALMEIDA, o autor de uma these, publicada em 1919.

3. O parasito, denominado por SAMBON: *Schistosomum Mansoni*, é um bom exemplo das dificuldades da nomenclatura: O nome generico de DIESING não somente parece melhor do que *Schistosomum*, mas, na verdade, é anterior, posto que o protocollo da sessão em que foi annunciado tenha sido publicado depois do primeiro trabalho de WEINLAND. O nome de *haematobium* compreendeu duas especies, das quaes uma foi primeiramente distinguida por Harley como nova especie pelo nome *capense*. Parece que este nome devia ficar. Se o autor não percebeu que sua especie fazia parte do *haematobium*, tinha por desculpa que a duplicidade dos ovos no mesmo exemplar da fórma do Egypto, era considerada demonstrada por uma observação de BILHARZ. Esta observação, na qual muito provavelmente houve um engano, alias facil de explicar-se, tem sido o cavallo de batalha de todo os unitarios; nunca foi confirmada e um enorme numero de novas observações invalidam a sua interpretação. No caso de prevalecer o nome de HARLEY, o *Mansoni* ficaria com o nome de *haematobium*, que assim teria sido usado para as duas especies e para cada uma separada. O remedio seria de suprimir o nome *haematobium* e distinguir entre *capense* e *mansoni*,

mas este procedimento talvez não seja completamente correcto e substitue um nome pouco conhecido por outro muito usado. Nesta difficuldade continuarei a usar o nome *Sch. mansoni*, ficando o de espinha terminal o *haematobium* (forma *capensis.)*

4. (Pg. 123, col. 2, l. 23.) Schistosomum e generos alliados em mammiferos e aves.

Conhece-se hoje um numero consideravel de especies que enumeramos segundo o tempo da descoberta (ou denominação) e com os synonymos.

1851 *Schistosomum haematobium* do homem e outros mammiferos.

1854 *Distomum canaliculatum* RUD. Especies de Larus e Sterna, genero *Ornithobilhorzia* de Odhner. Encontrado no Brazil por NATTERER, reincontrado por LUTZ em Santos ha uns 20 annos, observado tambem no Rio por FARIA e TRAVASSOS.

1864 *Distomum capense* HARLEY.=*Sch. haematobium* ex parte.

1876 *Schistosomum crassum* SONSINO. Em bovinos. Africa, Italia (Sardinia e Sicilia).

1895 *Bilharziella polonica* KOWALEWSKY. Em marecas. Europa.

1905 *Schistosomum japonicum* KATSURADA. No homem e em outros mammiferos.

1907 *Schistosomum mansoni* SAMBON.= *Sch. haematobium* ex parte.)

1906 *Schistosomum spindale* MONTGOMERY. Em bovinos. India, Sumatra.

1906 *Schistosomum indicum* MONTGOMERY. Em bovinos. India, Sumatra.

1913 *Schistosomum bomfordi* MONTGOMERY. Em bovinos. India, França.

1913 *Schistosomum turkestanicum* SKRJABIN. Em bovinos. TURKESTAN.

Além destas ha mais algumas especies em passaros, como *Gigantobilharzia acotyla* ODHNER 1910, *Ornithobilharzia intermedia* ODHNER de Laridas (Europa), e *kowalcskii* PARONA 1896 de *Larus melanocephalus* (Europa).

Estas especies formam um grupo dos trematodes digeneos que por alguns autores é considerado familia sob o nome de *Schistosomidae* ou *Bilharziidae*. Debaixo do ultimo nome ODHNER trata desta familia no Zoolog. Anzeiger de 1913 (pag. 58).

5. (Pg. 123, col. 1, l. 30.) Veja HOLCOMB 1907. Uma explicação que parece bastante satisfactoria, é que as femeas duma especie possam ser levadas pelos machos da outra ao ponto de destino destes, produzindo assim a heteropia daquelas.

Tambem o prolongamento observado em certos ovos de Sch. M. (Fig. 11) pode erroneamente ser interpretado como representando o espinho.

6) (Pg. 124, col. 2, l. 33.) Vi esta lagoa perto de Obidos no seu estado natural que parecia favoravel para molluscos aquaticos. O Dr. COSTA LIMA que dirijiu a drenagem me affirmou que os trabalhadores que eram occupados neste serviço acusavam coceira depois de ter entrado na agua.

7) (Pg. 132, col. 2, l. 22.) Depois da terminação do meu trabalho apareceram dous interessantes trabalhos de WILLIAM W. CORT (Univers. of California Publ. in Zoology, Vol. 18, Nos. 17 & 18, Jan. 4. 1919) que tratam da Cercaria do *Sch. japonicum* e dos ovos e miracidios dos Schistosomos humanos. No primeiro trabalho o autor representa o sistema excretorio com todas as ramificações o sistema nervoso uma glandula cephalica dentro da ventosa oral e o tubo intestinal rudimentar em desenhos muito claros, mas evidentemente muito schematicos, o que torna difficil uma comparação com a cercaria do *Sch. mansoni*. O segundo trabalho contem duas microphotographias e cinco desenhos dos ovos e miracidios do *Sch. m.* e do *Sch. j.* É interessante comparar a falta de detalhes nas photographias com a nitidez dos desenhos, que são uma representação graphica da interpretação do autor, mas pouco se assemelham com o aspeto das preparações microscopicas. Convem salientar que nos dous primeiros casos, por elle estudados,

CORT não encontrou vestigio do espinho rudimentar dos ovos de *Sch. jap.* Num terceiro caso foi encontrado em varios degraus de desenvolvimento, mas sómente na metade dos ovos examinados.

O autor dá tambem listas bibliographicas e notas historicas.

8) LEIPER R. T. (Pg. 133, col. 1, l. 23.) On the relation between the Terminal-spined and Lateral-spined Eggs of Bilharzia. Brit. (Med. Journ., March 18th. 1916, pg. 411).

In the worms derived from Bullinus sp. the males have four or five large testes and the two lateral gut branches are late in uniting, so that, even when mature, the worms have a short intestinal caecum. In the female the ovary lies in the latter half of the body. The uterus is very long, voluminous and contains many terminal-spined eggs some of which lie in pairs. The yolk glands have a limited range in the posterior fourth of the body. These worms belong to the species *Schistosomum haematobium (sensu stricto)*. In the worms derived from *Planorbis boissyi* the males are small, and have eight small round testes. The two lateral gut branches unite very early. In some of the smallest specimens found this union had already taken place. The intestinal caecum is correspondingly very long. The female has the ovary in the anterior half of the body. The uterus is very short, and almost invariably there is one egg only at a time in each specimen when a number have already been laid. The yolk glands are extensive ranging through the posterior two-thirds of the body along the whole length of the caecum. The eggs always have a lateral spine, the first laid is usuall smaller than those succeding, and the spine is then set almost at right angles to the long axis. Pending a consideration of the claims of other names to priority the specific name *Schistosomum mansoni* may be adopted rightly for these worms. They differ in their adult structure from *Schistosoma haematobium* (sensu strito) more markedly than does *Schistosomum bovis*.

Vesical bilharziosis and Manson's intestinal bilharziosis are therefore etiologically properly regarded as entirely distinct diseases."

9). (Pg. 137, col. 1, l. 4.) O estudo dos trabalhos tratando do *Sch. japonicum* mostra que a molestia produzida por este parasito é geralmente mais aguda, intensa e grave. Isto se explica por ser nesta especie a producção de ovos muito maior. Tambem o uso de excrementos humanos para adubos, a cultura debaixo da agua e o tempo prolongado de exposição, devida ao trabalho nos arrozaes inundados, favorecem as infecções intensas, sem que haja necessidade de recorrer a uma virulencia maior do parasito.

10). (Pg. 137, col. 1, l. 26.) Os residuos do sangue digerido devem ser rejeitados pela boca como em todos os trematodes que não tem anus. De facto reconhecem-se principalmente nos animaes com forte infecção experimental, tanto no sangue como em leucocytos e phagocytos dos tecidos massas pretas. As mesmas vêm-se tambem na infecção humana onde todavia podiam ser attribuidas a infecções palustres que se pode excluir nos animaes de laboratorio.

11). (Pg. 137, col. 2, l. 3.) Ultimamente (1818). LAWTON descreveu uma epidemia de pyrexias, observada entre soldados australianos, infectados no Egypto. A symptomatologia lembrou completamente a que se acostuma observar nas infecções agudas por *Sch. japonicum.*

12). (Pg. 137, col. 2, l. 27.) O instituto possue uma fita cinematographica mostrando um rato branco depois de uma immersão prolongada da parte posterior do corpo em agua, contendo muitas cercarias vivas. Os signaes de comichão manifestam-se principalmente na cauda e nos pés posteriores, como resulta claramente pela applicação dos dentes a estas partes.

13). (Pg. 137, col. 2, l. 8, de baixo.) Convem citar aqui que nas infecções agudas, a que se refere a penultima nota, houve tosse, accompanhada de signaes claros de bronquite e conjestão pulmonar.

Os escarros ás vezes continham sangue. Trata-se aqui de simptomas precoces, outros mais tardios são provocados pelos ovos.

14). (Pg. 139, col. 2, l. 14, de baixo.) Os estados ulteriores da cirrhose e as alterações vasculares manifestam-se distinctamente nas infecções espontaneas por *Sch. japonicum* que se observam nos grandes animaes domesticos.

15. (Pg. 142, col. 2, l. 15, de baixo.) Visto que os anthelminthicos não podem alcançar os parasitos na circulação portal, senão em diluição extrema, experimentaram-se outros preparados arsenicaes e antimoniaes, emetina e azul de methylene. Todavia estas substancias, activas em infecções por protozoarios, spirillos e outros organismos da mesma categoria, não parecem prometter muito resultado, usados contra vermes sanguicolas. Mesmo que matassem os schistosomos, sem produzir symptomas novos e talvez mais graves, ainda ficariam os ovos e os symptomas por elles produzidos, a menos de tratar-se de uma infecção completamente recente, difficilmente diagnosticavel. Alguns autores allegam bons resultados, mas estes deviam ser comprovados por experiencias em animaes que não offerecem grandes difficuldades.

Nestas condições LEIPER não obteve resultados favoraveis.

Para bibliographia deste assunto se pode conferir a these de ELPIDIO DE ALMEIDA (1919).

Additamento (Jan. 1920.) Sobre o tratamento de doentes de *Schistosomum* pelo Tartrato de Antimonio CRHISTOPHERSON fez varias publicações, das quaes cito uma em collaboração com J. R. NEWLOVE no: Journ. of Trop. Med., Volume XXII, pg. 128, 1919, que se refere ao tratamento de 70 casos. Declara que os resultados, em parte conferidos durante dous annos, foram optimos. O autor se refere principalmente ao *Sch. haematobium* e recomenda uma dose total de 25 a 30 grãos, approx. duas grammas. Começa com a injeção de meio grão em ca. de tres grammas de soro physiologico. As injecções que devem ser feitas nas veias são repetidas de 2 em 2 dias, aumentando de tres centigrammas cada vez, até alcançar 12 a 15 centigrammas (5 grãos). Depois de alguns dias desapparece o sangue na urina. Duas semanas depois de se ter chegado a 20 grãos os ovos eliminados são estereis.

Estes resultados precisam ser confirmados em relação ao *Sch. Mansoni*. De uma experiencia, feita aqui em cobaia, resulta que não se pode obter a cura com poucas doses, mesmo quando estas forem relativamente grandes. O tratamento ha de ser forçosamente demorado, quando é feito pelo methodo indicado, e não poderá ser abbreviado, visto que se trata de uma substancia bb. que deve ser usada com muito cuidado.

Explicação das estampas 37—43.

Estampa 37. (Figs. 1—8).

Fig. 1. Casal do Schistosomum haematobium. A femea mostra muitos ovos com espiculo terminal.×28. Copiado de FRITSCH.

« 2. Casal de Schistosomum haematobium. A femea mostra o intestino ramificado até perto da extremidade caudal. Copiado de BILHARZ

« 3. Casal de Schistosomum mansoni; preparado em balsamo mostrando bem a ramificação do intestino, que nos dous sexos se une antes do meio do corpo.× 40. Original.

« 4. Terço anterior de uma femea de Schistosomum mansoni com um ovo de espinho lateral×40. Original. Prep colorida com hematoxilina.

« 5. Macho de Schistosomum mansoni mostrando o apparelho testicular.×20. Orijinal.

« 6. a. b. c. Macho de Schistosomum mansoni mostrando o apparelho testicular em tres posições differentes. Original.

« 7. a. b. Mostram o mesmo de dous outros machos com a apparencia commum de oito vesiculas. Não se distingue uma vesicula seminal.×70. Original.

« 8. Macho de Sch. haematobium, copiado de Bilharz.

Estampa 38. (Figs. 9—38).

Fig. 9—14. Ovos anormaes. 9—11 com a casca alongado no polo anterior, podendo simular um espiculo terminal. 12 ovo com 2 espiculos; 13 com crystaes na casca; 14 ovo calcificado.×150. Todos os ovos foram observados em fezes de homens, infectados no norte do Brazil.

« 15. Ovo normal de *Schistosomum mansoni* mostrando o embryão.×400.

« 16. Embryão observado algum depois da sahida. Prep. colorida.×400.

« 17. Embryão que não conseguiu penetrar, muito tempo depois da sahida.×400.

« 18. Penetração dos miracidios na antenna.×20. 2 miracidios já penetraram.

« 19. *Planorbis olivaceus* com antenas normaes, 20 e 21 com as antenas infectadas: os exemplares não são adultos. Tamanho anterior.

« 22—38. Apparencia de antennas em varios degraus de infeção. As figuras 19 a 27 em tamanho natural, as outras (28 a 38) um tanto augmentadas. A figura 32 representa uma antenna normal.

Todas as figuras destas estampa são originaes e, com excepção da figura 16 tiradas de preparações, observadas a fresco, sem coloração.

Estampa 39. (Figs. 39—47).

Fig. 39. a. Sporocysto novo dentro da antenna, mostrando ainda os orgãos tubulares vibrateis e o epithelio vibratil peripherico, em via de destacar-se; b, o mesmo desenvolvimento em via de formação de sporocystos secundarios.×100.

« 40. Conteúdo de um sporocysto primario quasi maduro esca-

pando da antena comprimida.×150.

« 41. Corte de antenna contendo um sporocysto primario quasi maduro. Prep colorida por hematoxylina.×140.

« 42. Sporocysto secundario×500.

« 43–45. Sporocystos secundarios das visceras de Planorbis. Illuminação lateral.

« 45–47. Os mesmos vistos por transparencia.

Todas as figuras desta estampa são originaes, tirados de preparações e observadas em estado natural, com excepção da Fig. 41.

Estampa 40. (Figs. 48—63).

Fig. 48. Corte de figado de *Planorbis* infectado mostrando uma secção longitudinal de uma cercaria quasi madura. Preparação colorida×250.

« 49 & 50. Secções de sporocystos secundarias do figado de um *Planorbis* infectado×700.

« 51. Cercarias vivas de Sch. mansoni×30.

« 52 a 61. Cercarias do mesmo, tiradas de varias preparações 120.

« 62. Cercaria do mesmo. Desenho combinado de observações de cercarias vivas.

« 63. Corte colorido mostrando, na seção obliqua de uma cercaria, os ductos glandulares entortilhados e as cellulas glandulares superiores.

Estampa 41. (Figs. 64—70).

Fig. 64. *Dicranocercari ocellifera* viva×250

« 65. A mesma colorida em glycerina×250.

« 66. A mesme de um preperado não colorido.×250.

« 67 & 68. *Dicranocercaria valdefissa*. De um preparado não colorido.×250.

« 69. Corte de pelle de porco mostrando nm schistosomulo penetrado. Preparado colorido.×600.

« 70. Alça intestinal de cobaia infectada mostrando as veias mesentericas dilatadas e cheias de parasitos. Conservação em formol (10 %). Tamanho natural.

Estampa 42.

Fig. Cortes de figado de caramujos infectados.

« Cortes do mesenterio de uma cobaia infectada, mostrando os schistosomos dentro das veias em seção longitudinal e transversal.

« Corte do figado de uma cobaia infectada, mostrando uma seção transversal de uma femea de Sch. mansoni. As figuras são photographias, tiradas de preparações coloridas.

Estampa 43

Fig. 1, a—d: Exemplar adulto de Planorbis olivaceus.—Casca de cima, de baixo, em perfil e em corte; exemplar adulto com a metade superior da casca removida, ficando todo o animal exposto (desenho conbinado); e: corte de um exemplar pequeno e aberrante. Tamanho natural.

« 2. Casca de Planorbis guadalupensis, a de cima, b de baixo, b em corte×2; c tamanho natural.

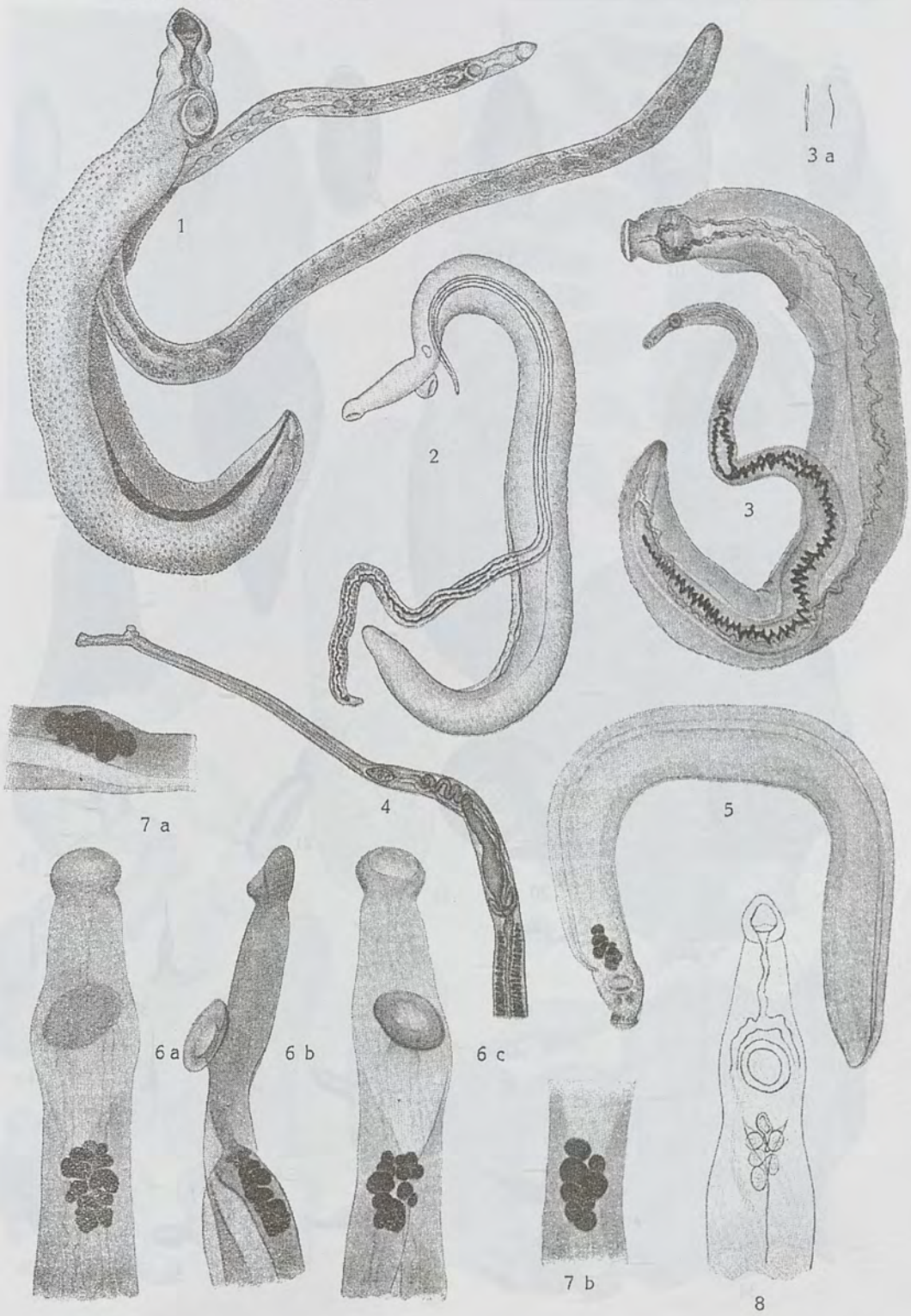
« 3. Casca de Planorbis centimetralis a—d como na Fig. 2.

« 4· Casca de Planorbis Boissyi do Egypto; a–d como nas figs. 2 3.

Nesta estampa, os cortes das cascas, quando horiozntaes, mostram a boca á direita do espectador. Sendo a casca considerada sinistral assim o lado ventral está por cima e o dorsal para baixo. Nos cortes em posição vertical a abertura da casca está em baixo.

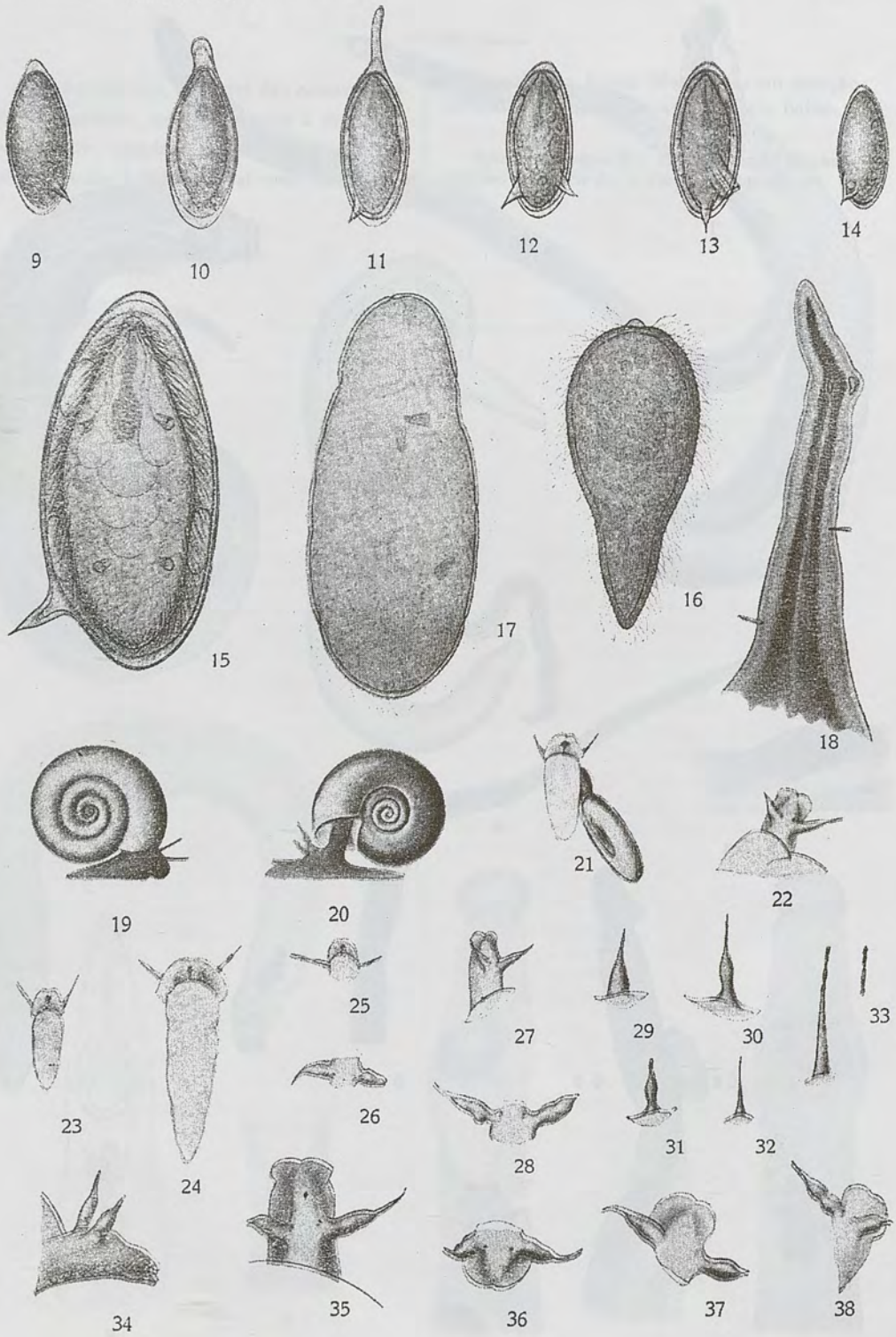
Nota: As estampas 42 e 43 foram tiradas de photographias, feitas pelo Sr. J. Pinto, photographo do Instituto.

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XI - 1919

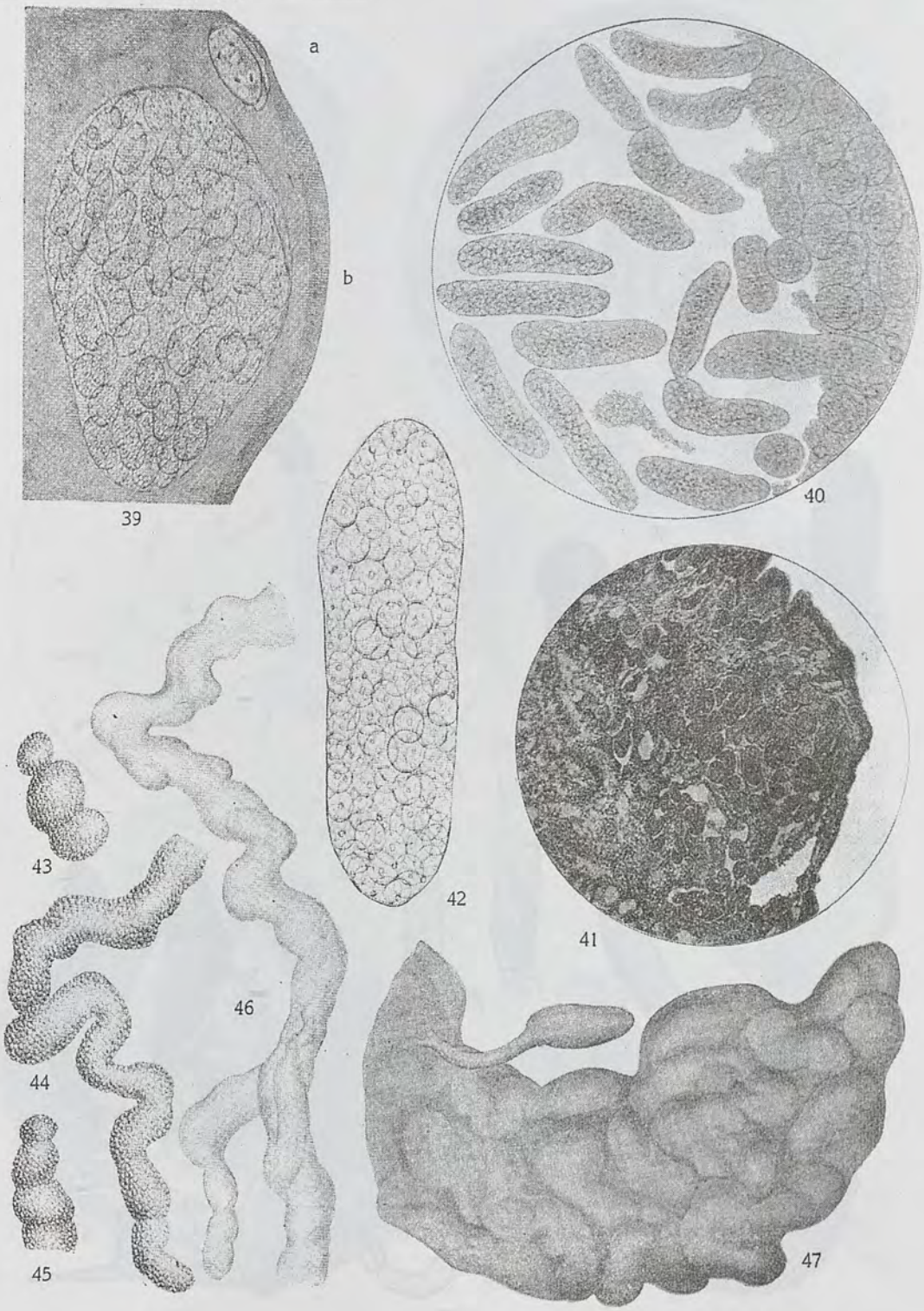


RUD. FISCHER del.

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XI – 1919

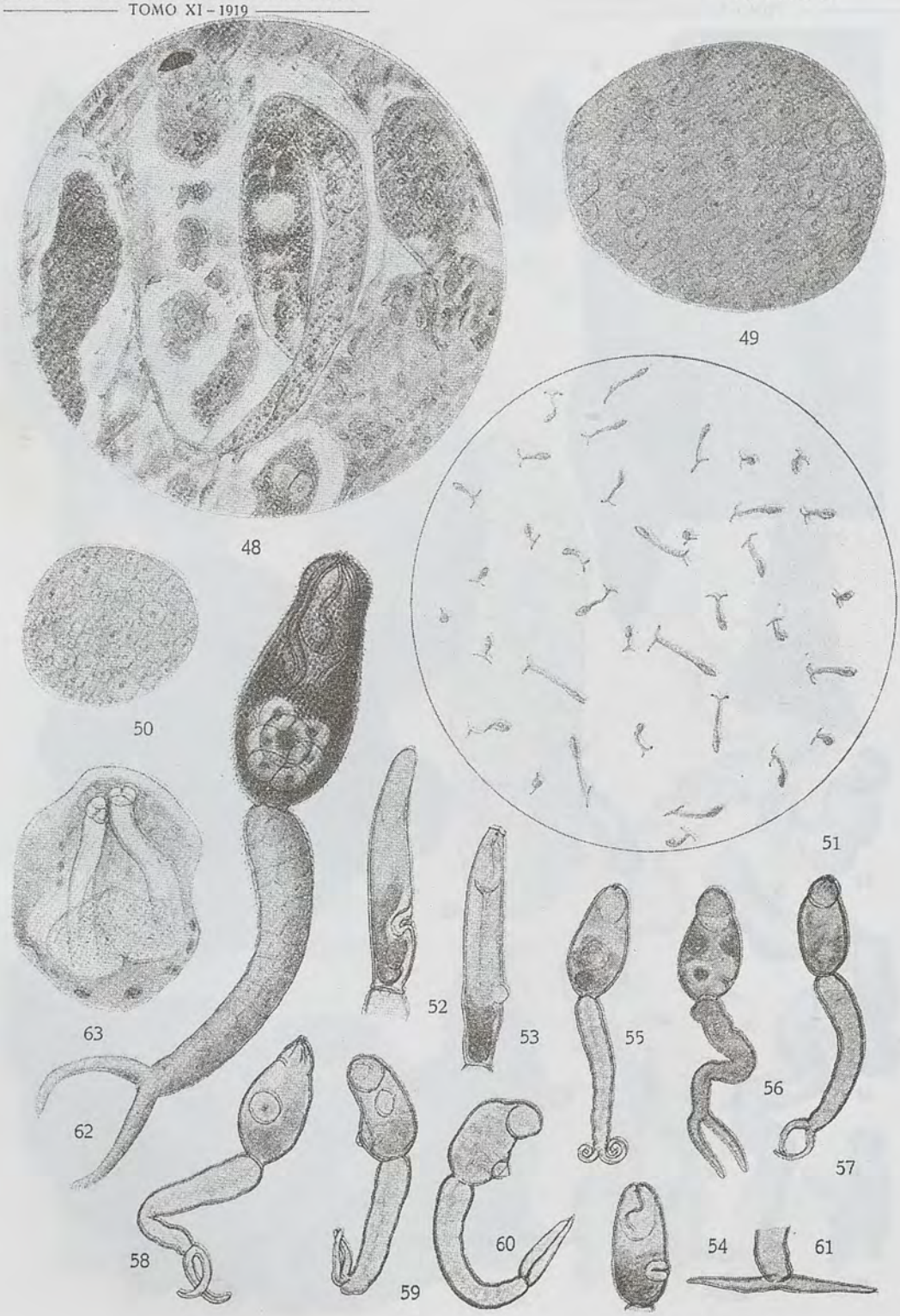


RUD. FISCHER del.



RUD. FISCHER del.

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XI - 1919

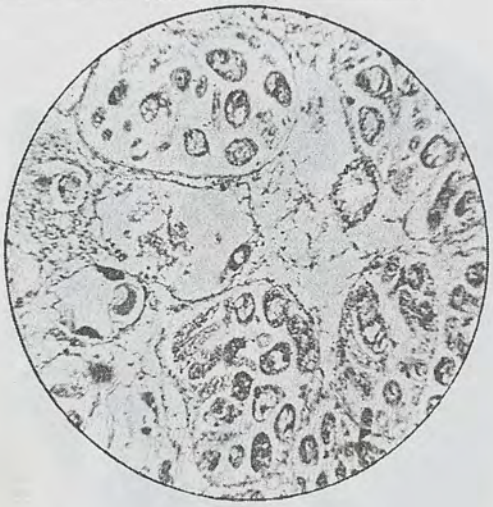


RUD. FISCHER del.

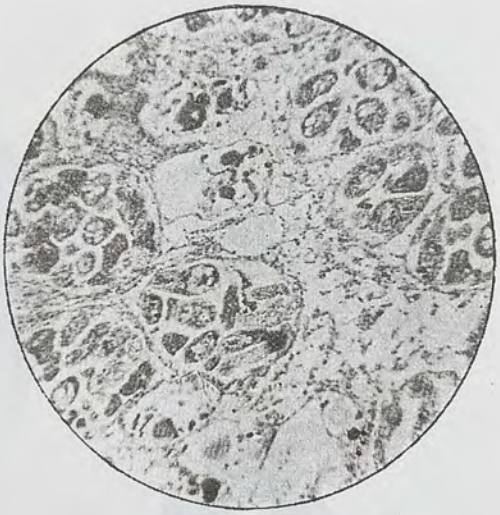
MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XI - 1919

ESTAMPA 41

RUD. FISCHER del.

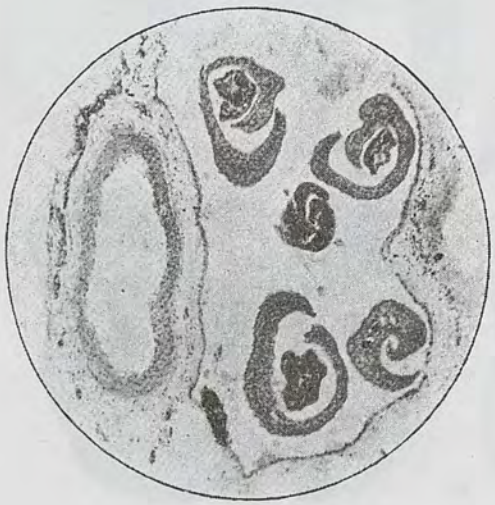


1

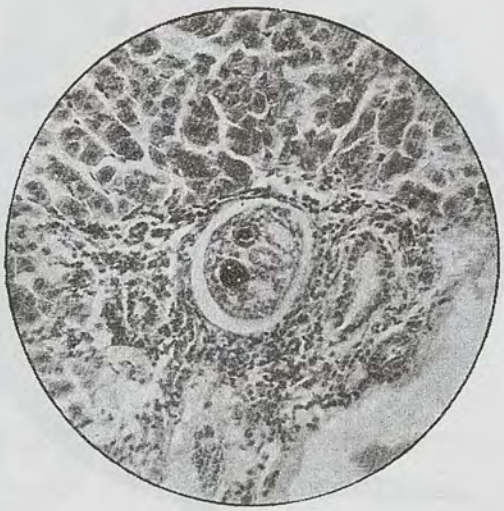


2

3



4



5

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XI - 1919

ESTAMPA 43

CASTRO SILVA e R. FISCHER del.

Anno 1926

Tomo XIX

(Com 91 estampas)

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

Sobre a importancia no diagnostico post-mortem da febre amarella, das lesões microscopicas descriptas por H. DA ROCHA LIMA e por HOFFMANN

por

C. MAGARINOS TORRES

(da Secção de Anatomia Pathologica do Instituto OSWALDO CRUZ)

(Com a estampa 1.).

Das alterações macroscopicas mais commummente assignaladas na febre amarella, que são a ictericia generalisada, o aspecto do figado, em geral levemente augmentado de volume, com uma coloração amarella diffusa, côr de folha morta, comparavel á que se verifica na intoxicação pelo phosphoro, tumefacção turva e degenerescencia gordurosa do myocardio e do parenchyma renal, congestão do apparelho digestivo e conteúdo do estomago semelhando bôrra de café, nem todas são pronunciadas e necessariamente presentes, conforme referem trabalhos recentes, notadamente os de ROCHA LIMA.

Sem duvida, de todas as alterações enumeradas, as do figado parecem ser as mais constantes; comtudo, mesmo essas, podem falhar.

Tivemos opportunidade de constatar esse facto em um caso de febre amarella, originario de Fortaleza, E. do Ceará, cuja autopsia fizemos no Hospital PAULA CANDIDO, em 1923.

Além do aspecto macroscopico do figado, o qual differe do que foi considerado outr'ora como necessariamente presente no quadro anatomo-pathologico dessa doença, o caso offerece de interessante, as lesões hemorrhagicas dos pulmões, raramente observadas na affecção, e principalmente a presença de lesões microscopicas, umas occorrendo no figado e descriptas por H. DA ROCHA LIMA como caracteristicas da febre amarella, outras occorrendo nos rins e recentemente evidenciadas por HOFFMANN como lesões typicas da febre amarella.

A constatação das duas lesões microscopicas foi decisiva, no presente caso, para estabelecer o diagnostico *post-mortem* de febre amarella, o que eviden-

cia a importancia que devem ter na pratica.

Damos a seguir o protocollo da autopsia e a observação clinica do caso, a qual devemos á gentileza dos Drs. JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE e TAVARES DE MACEDO JUNIOR.

«*Observação*—I. S., de nacionalidade brazileira, natural do E. de Minas Geraes, de 27 annos de edade, de côr branca, solteiro, negociante, passageiro de 1a. classe do vapor nacional «Bahia».

Ás 12 horas de 1 de Março de 1923, no 4º dia de molestia (conforme a guia). deu entrada no Hospital PAULA CANDIDO—Rio de Janeiro, em estado grave.

Tendo embarcado em Fortaleza (E. do Ceará), onde, na occasião, era epidemica a febre amarella, I. S. adoeceu depois de haver o navio deixado Recife, tendo assim, embarcado em periodo de incubação da molestia.

Colhemos as seguintes notas da observação clinica feita no referido hospital.

1-Março-1923-Temperatura (12 hs.)—37º, pulso 82—á tarde 38º, pulso 94. Marcha clinica: Ictericia. Anciedade epigastrica. Escassez e retenção de urinas que foram extrahidas n'um voume de cerca de 200 c. c., revelando grande quantidade de albumina. Soluços. Vomito preto nos ultimos momentos. Após enteroclyse, expulsão de fezes descoradas.

Diagnostico clinico—Febre amarella.

Falleceu ás 23 horas e 25 minutos de 1 de Março de 1923.

Foi feita uma injecção de 1 litro de formol na carotida direita, ás 12 horas de 2 de Março. A autopsia foi realizada ás 15 horas de 2 de Março.

LESÕES MACROSCOPICAS

O cadaver é o de um homem de côr branca, em bôas condições de nutrição. Pupillas egualmente dilatadas. Corneas turvas e seccas. Tegumento cutaneo mostra uma coloração geral amarella, sendo vistas manchas de côr vermelha arroxeada, nas porções declives do thorax e abdomen e na face posterior dos braços. Os ganglio lymphaticos superficiaes não são augmentados de volume. Externamente não ha edema, nem anomalias. A coloração amarellada é accentuada nas conjunctivas e na mucosa buccal.

Ha uma incisão longitudinal na região cervical direita, atravez da qual penetra uma canula de borracha a qual se acha ligada á carotida primitiva direita. Rigidez cadaverica presente e accentuada. Pellos lisos, de côr negra, abundantes nas regiões pilosas.

Ao córte, a camada gordurosa não é reduzida. Musculos de côr vermelha escura. O peritoneo é liso, humido e brilhante. Nas porções declives são encontrados alguns c. c. de liquido amarello limpido. O figado não attinge o rebordo costal. A gordura do epiploon é conservada. Appendice cecal livre e permeavel. O diaphragma acha-se na altura do 4º espaço intercostal á direita, da 5a. costella á esquerda.

Thorax—O espaço precordial é descoberto em extensão normal.

O pulmão direito mostra algumas adherencias firmes, não extensas ás paredes do thorax.

A cavidade pericardica encerra alguns c. c. de liquido.

A mucosa da base da lingua é avermelhada, sendo vistos alguns pontos de côr vermelha viva, occupando o apice das papillas. Pequenas manchas de côr vermelha viva são vistas egualmente sobre a epiglotte e sobre o pharynge.

A mucosa do esophago é pallida. A trachéa mostra uma mucosa de côr vermelha escura, sendo muito humida. Dos bronchios escorre abundante liquido sanguinolento.

Pulmão esquerdo augmentado de volume, pesando 660 grs. A pleura mostra ao nivel da base, manchas de côr vermelha arroxeada, de extensão variavel, A crepitação é diminuida em ambos os lobos. Pela palpação são sentidos no lobo superior, nodulos mal limitados, de consistencia não muito firme.

A superficie do córte no lobo superior mostra a existencia de uma zona em fórma de cunha, com a base situada para o lado da pleura, proeminente, irregular, de côr vermelha, muito escura, quasi negra; outras zonas menores, de côr vermelha negra, são vistas disseminadas pela superficie do córte e presentes em qualquer córte interessando esse lobo Não são vistas areas de consolidação do tecido pulmonar.

A superficie do córte no lobo inferior é de côr vermelha escura muito humida, dando sahida pela expressão a abundante liquido de côr vermelha.

Pulmão direito augmentado de volume, pesando 800 grs. A pleura é recoberta por membranas amarellas, firmes, em zonas circumscriptas do lobo superior.

A superficie do córte no lobo inferior tem um aspecto perfeitamente comparavel á do lobo superior do outro pulmão. São vistas egualmente areas de côr vermelha negra, levemente proeminentes, irregulares, separadas por zonas do tecido pulmonar, de côr vermelha mais clara. Não ha consolidação do tecido pulmonar.

Os lobos superior e medio mostram uma superficie do córte de côr vermelha escura, muito humida, dando sahida pela expressão a abundante liquido pouco espumoso.

— 7 —

O coração não é augmentado de volume ; a gordura do epicardio tem coloração amarella accentuada. Sobre o epicardio são vistos pequenos pontos de côr vermelha viva, não muito abundantes. Esses pontos occupam principalmente o sulco interventricular. A ponta é formada pelo ventriculo esquerdo.

As cavidades do coração não são augmentadas de volume. O endocardio é liso e brilhante em toda a extensão, tendo leve coloração amarellada. As valvulas são livres e flexiveis A tunica interna mostra uma coloração amarella e um aspecto liso e brilhante.

Baço augmentado de volume, pesando 270 grs. Ao córte, são vistas areas de côr pardacenta, seccas (fixação parcial pelo formol). Devido ao estado de conservação do orgão, (em parte fixado), não é possivel apreciar detidamente as alterações do parenchyma O tecido conjunctivo é reconhecivel.

Capsulas suprarenaes apparentemente sem alterações. A camada medullar não é amollecida (fixação parcial pelo formol).

Ambos os rins tem volume normal, o direito pesando 170 grs., o esquerdo 200 grs. Ao córte, são vistas areas de côr pardacenta, seccas (fixação parcial pelo formol). O estado de conservação do orgão (em parte fixado), não permitte uma apreciação das lesões macroscopicas.

Bexiga destendida por urina de côr amarella, levemente turva. A pesquisa de albumina é positiva, revelando grande quantidade desse corpo. A pesquisa de pigmentos biliares é positiva. O exame microscopico mostra a existencia de cylindros granulosos. A mucosa da bexiga é pallida.

Prostata e vesiculas seminaes sem alterações.

Estomago encerra liquido algum tanto espesso, de côr negra. As pregas são pouco accentuadas. A mucosa é pallida. São vistas esparsas, tres pequenas manchas medindo cerca de 2 mm. de diametro, manchas de côr vermelha viva.

A mucosa do duodeno, jejuno illeo e do grosso intestino é pallida em toda a extensão. No jejuno illeo foram encontrados alguns exemplares de *Ascaris*.

O figado é diminuido de volume, pesando 1100 grs. O lobo direito é globuloso. O lobo esquerdo é muito reduzido. O bordo anterior é arredondado. A capsula é lisa transparente e brilhante. A consistencia do orgão é mais ou menos firme. A superficie do orgão apresenta coloração rosea amarellada, mostrando areas onde a côr amarella predomina. Os vasos da capsula de GLISSON são turgidos.

A superficie do córte mostra um desenho lobular bem reconhecivel, sendo vistas pequenas areas de côr amarella rosea, de tamanho correspondente a um lobulo hepatico, separadas entre si por sulcos de côr vermelha clara. Irregularmente disseminadas são vistas outras areas mais ou menos do volume de um lobulo hepatico, coradas em amarello claro contrastando fortemente com a coloração rosea amarellada geral do parenchyma. Não ha augmento apparente do tecido conjunctivo. Não são vistas areas do tecido parcialmente fixadas, como encontramos no baço e nos rins, parecendo que a penetração do formol no figado foi pouco extensa, o que se explicar pela pequena quantidade (um litro) do fixador injectado. O aspecto é o mesmo, qualquer que seja o córte effectuado. O desenho lobular é sempre bem reconhecivel.

Vesicula biliar distendida por bile fluida, de côr amarella.

Os ganglios mesentericos não são augmentados de volume.

Pancreas sem alterações macroscopicas.

Cranco—Partes osseas normaes Dura-mater adherente em extensão normal. Superficie interna lisa e brilhante. Os vasos sobre a convexidade são turgidos. As leptomeninges encerram liquido em suas malhas, apresentando um aspecto gelatinoso, mais accentuado na metade posterior do encephalo. Vasos da base normaes.

Ao córte, os pequenos vasos apparecem como pontos sangrentos. Não são vistas areas de amollecimento, nem outras alterações macroscopicas.

Diagnostico anatomico: **Typhus icteroides. Hyperaemia, degeneratio adiposa, necrosis et atrophia hepatis. Ictericia. Nephritis acuta. Haemorrhagia pulmonis utriusque. Infarctus haemorrhagicus lobi superioris pulmonis sinistri. Petechiae cutis, pleurae, epicardii, pharyngis, laryngis et ventriculi. Hyperaemia encephali. Oedema leptomeningium. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Ascariasis.**

ESTUDO MICROSCOPICO

Figado:—A pesquiza de gordura pelo Sudão III e escarlate R em fragmentos de figado, revela a existencia de uma pronunciada degenerescencia gordurosa.

Em córtes histologicos de material incluido em parafina, verificamos com grande clareza, o typo de lesão descripto por ROCHA LIMA (v. Est. 1 fig. 2).

A degenerescencia gordurosa é accentuada, existindo, sem outra lesão, em torno dos espaços-porta. Na porção media do lobulo hepatico, além da degenerescencia gordurosa, existe necrose das cellulas hepaticas, a qual offerece a particularidade de attingir de modo discontinuo os elementos cellulares, de uma trave de REMAK; as cellulas isoladamente attingidas pela necrose, são diminuidas de volume, retrahidas, o seu plasma fortemente eosinophilo, o nucleo em karyolyse ou em pycnose. O typo de necrose

— 8 —

é bem diverso do que occorre na congestão chronica passiva e em um typo especial de necrose, de origem embolica, o qual descrevemos em um outro trabalho.

Os capillares sanguineos são dilatados, mas não de modo accentuado. Não vimos deposito de pigmentos biliares, nem inclusões nas cellulas de KUPFER. Não ha egualmente hemosiderina nas cellulas hepaticas.

Rim:—Os córtes do rim mostram edema do espaço capsular, tumefacção turva e descamação das cellulas da capsula de BOWMAN. Os tubos contornados mostram edema e degenerescencia gordurosa intensa das cellulas de revestimento. No interior dos tubos rectos de BELLINI e alças de HENLE são encontrados cylindros hyalinos e hemorrhagicos. Em outras alças de HENLE, nota-se extensa necrose e descammação das cellulas epitheliaes, as quaes se accumulam na luz do tubo e são circumdadas por leucocytos endotheliaes; em certos pontos, essas massas de cellulas necroticas coram-se intensamente de modo uniforme em azul nos preparados pela hematoxylina, como se estivessem impregnadas por saes de calcio; esse aspecto, que se assemelha a calcificação, no nosso caso, não tem a extensão da calcificação assignalada no periodo adiantado da nephrite mercurial; de facto, só observamos essa calcificação depois que nossa attenção foi despertada pela leitura do trabalho de HOFFMANN; pode, comtudo, ser verificada em quasi todos os córtes, se bem que, em cada um delles, só exista em 2 ou 3 tubulos. Talvez esteja ahi a explicação de ter passado desapercebida á maioria dos pathologistas.

CONCLUSÕES

Algumas das alterações macroscopicas presentes ordinariamente na febre amarella podem falhar ou não serem sufficientemente pronunciadas, impossibilitando assim uma confirmação anatomo-pathologica da doença baseada no quadro macroscopico.

É indispensavel um estudo microscopico, o qual revelará a presença de duas lesões consideradas como typicas da affecção.

Uma dellas, descripta por H. DA ROCHA LIMA, consiste em uma necrose da cellula hepatica attingindo elementos cellulares isolados de uma trave de REMAK, principalmente na zona intermediaria do lobulo hepatico, associada a uma degenerescencia gordurosa mais ou menos intensa. Esta lesão póde existir em outras affecções taes como a peritonite septica, a appendicite gangrenosa, a atrophia amarella aguda do figado, mas a sua constancia e destribuição no figado do amarellento, é, segundo a experiencia do citado auctor, um dos melhores caracteristicos histo-pathologicos da doença.

No nosso caso é ella muito nitida, conforme se pode ver no desenho annexo.

Outra lesão microscopica, recentemente evidenciada por HOFFMANN e a qual elle poude constatar em 24 casos de febre amarella que foram examinados durante a epidemia de Havana de 1906-08 por especialistas taes como FINLAY, GORGAS, GUITERAS, e outros, consta da presença de cylindros calcificados no interior dos tubos contornados e das alças de HENLE, semelhantes aos que com frequencia occorem na nephrite produzida pelo sublimado corrosivo. De longa data é assignalada na febre amarella, uma nephrite aguda diffusa, sobrevindo degeneração parenchymatosa e necrose do epithelio de revestimento dos diversos segmentos do tubulo urinifero, e formação de cylindros. LUTZ (communicação verbal), sempre aconselha a verificação da cylindruria em casos suspeitos de febre amarella, elemento, que, segundo a sua experiencia, nunca falha na referida af-

— 9 —

fecção. A novidade da constatação de HOFFMANN consiste em notar a tendencia de taes cylindros, formados por cellulas descamadas, fibrina e cellulas exsudadas, para se impregnarem, segundo um processo muito agudo, pelos saes de calcio, apresentando-se corados em azul intenso nos preparados pela hematoxylina.

Esta lesão tambem occorre accidentalmente em diversas doenças infectuosas mas sem regularidade ou frequencia, não tendo sido, porém, constatada na doença de WEIL.

De facto a lesão de HOFFMANN nos escapara a um primeiro exame, o mesmo devendo ter acontecido a muitos pathologistas que estudaram material de febre amarella. Logo, porém, que, pela leitura do trabalho de HOFFMANN, tivemos a nossa attenção voltada para a sua verificação, conseguimos evidencial-a nos primeiros córtes examinados. Quer isso dizer que, no caso que observamos, é uma lesão discreta, embora nitida. Fazendo o exame minucioso dos cylindros granulosos encontrados nos tubos contornados e, principalmente nos segmentos terminaes do tubulo urinifero (alças de HENLE e tubos de BELLINI)), encontramos, em alguns delles, a presença de massas irregulares, sem estructura, corando-se pela hematoxylina da mesma maneira que tecidos incrustados por saes de calcio; ora o pequeno fragmento incrustado de saes de calcio occupava toda a luz do tubo urinifero, ora, formavam-se diversas massas menores, com as reacções corantes de tecidos calcificados e que se collocam de permeio com cellulas epitheliaes descamadas e leucocytos exsudados.

Vem a proposito fallarmos na necessidade da colheita de material em condições que permittam um estudo microscopico conveniente, em casos de autopsia suspeitos de febre amarella e cujo *veredictum* anatomico é demandado.

Já varias vezes a Secção de Anatomia Pathologica do Instituto OSWALDO CRUZ tem recebido material constituido por peças, ás vezes orgãos inteiros, conservados em quantidade insufficiente de liquido fixador e que, por unica informação, trazem o nome do doente, e, ás vezes, tambem, a proveniencia; em troco é exigido um *veredictum* decisivo e quasi sempre urgente.

Em um caso de autopsia suspeito de febre amarella devem ser retiradas finas talhadas ou fragmentos, que devem ter a espessura maxima de 1 cm., embora meçam de lado aproximadamente 10 x 5 cms., de todos os orgãos internos, e de modo indispensavel dos seguintes: *figado, rins* e *baço;* os fragmentos serão collocados em vidros de bocca larga, com algodão hydrophylo no fundo, encerrando dez vezes o volume das peças de 1 solução aquosa a 10 % de formol do commercio, a qual deve ser mudada pelo menos uma vez no fim de 24 horas; do baço e figado, é indispensavel ainda enviar fragmentos fixados em alcool a 40° do commercio. Taes fragmentos, bem fixados, são de muito maior utilidade do que visceras fixadas e enviadas inteiras, imprestaveis para um estudo microscopico. Os vidros, protegidos por serragem de madeira, suportam longo transporte.

É sempre bom fazer acompanhar as peças de algumas informações sobre a autopsia, indicando a *existencia de icterícia,* o aspecto do *conteúdo do estomago,* a *coloração* e *peso do figado* e o *peso do baço,* o *aspecto do peritoneo* (liso e brilhante, mesmo em torno do appendice vermiforme, alças intestinaes livres de adherencias reciprocas, auzencia de liquido ou presença unicamente de liquido limpido seroso na cavidade peritoneal o que significa auzencia segura de peritonite) e a pesquiza de albumina e de cylindros na urina do cadaver.

— 10 —

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 1.

Fig. 1—Aspecto de um córte macroscopico de figado (caso de febre amarella) mostrando conservação do desenho lobular.

Fig. 2—Córte do mesmo figado (caso de febre amarella) mostrando degenerescencia gorda e necrose da cellula hepatica attingindo muitas vezes elementos cellulares isolados de uma trave de REMAK, principalmente na zona intermediaria do lobulo (lesão de ROCHA LIMA).

Fig. 3—Córte de tubo contornado (caso de febre amarella), mostrando cylindro calcificado (lesão de HOFFMANN).

Fig. 4—Córte de alça de HENLE (caso de febre amarella) mostrando descamação e necrose das cellulas epitheliaes e cylindro calcificado (lesão de HOFFMANN).

— II —

Litteratura

1924—HOFFMANN, W. H. Los cilindros de cal en los riñones, un nuevo signo diagnostico de la fiebre amarilla. Sciencia Medica, Anno II, nº 6, pg. 284.

1924—HOFFMANN W. H. La histopatologia de la fiebre amarilla. Rev. de Med. y Cirurgi. de la Habana. T. XXIX, nº. 10 Mayo 25.

1925—HOFFMANN, W. H. Laanatomia patologica de la fiebre amarilla. El Siglo Medico, nº. 3722. T. 75. Año LXXII. 11 de Abril.

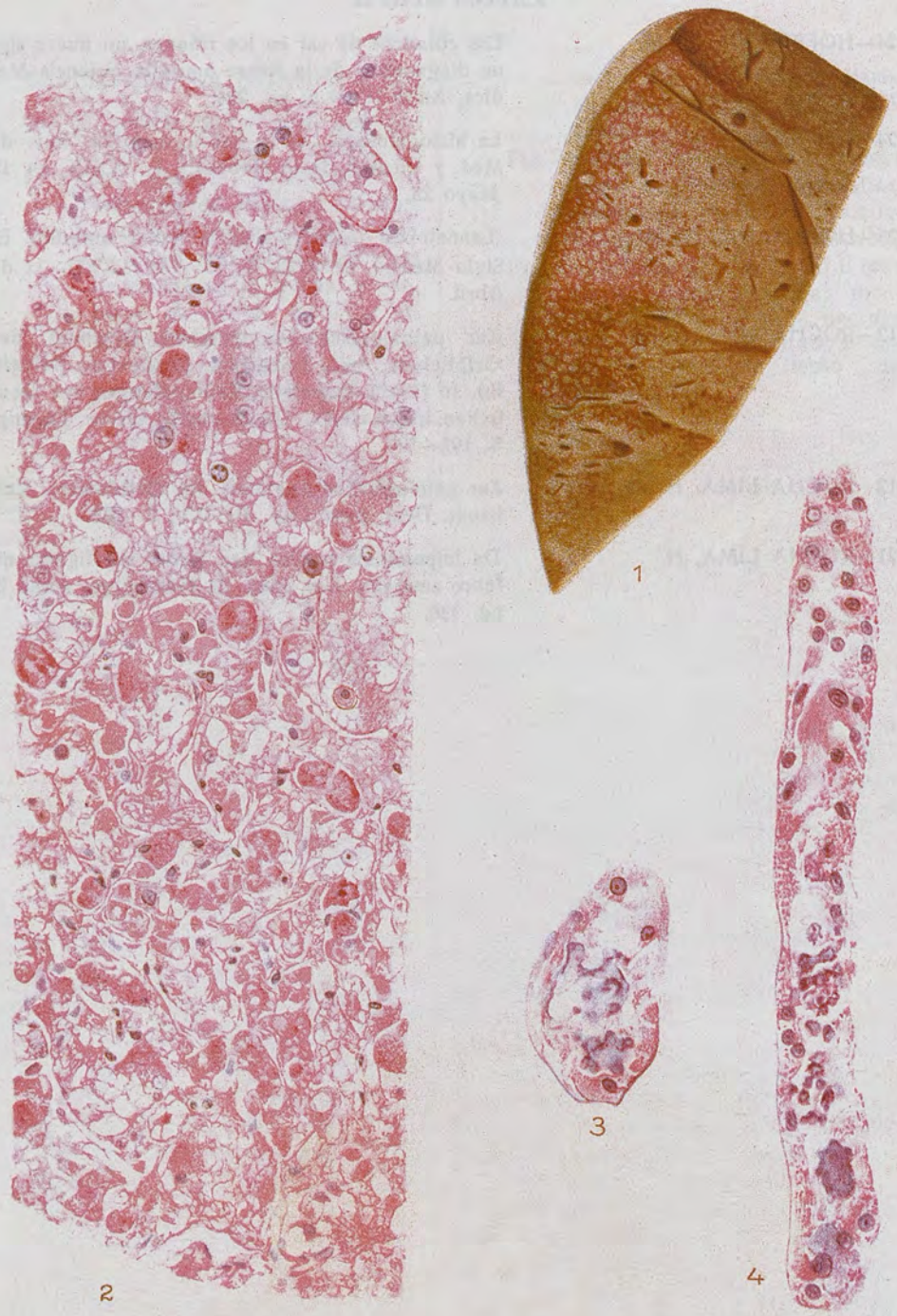
1912—ROCHA LIMA, H. da Zur pathologisch—anatomischen Diagnose des Gelbfiebers. Arch. f. Schffs u. Trohenhyg. Beiheft. Bd. 16 (1912). Beiheft 1; Verhandlungen der Deutschen tropenmediz. Gesellschaft. Vierte Tagung. S. 192—199.

1912—ROCHA LIMA, H. da Zur patologischen Anatomie des Gelbfiebers. Verhandl. Deut. path. Ges. Bd. XV, S. 163.

1921—ROCHA LIMA, H. Da importancia pratica das lesões do figado na febre amarella. Rev. Med. de Hamburgo, Anno 2, pg. 336.

MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
TOMO XIX - 1926

ESTAMPA 1

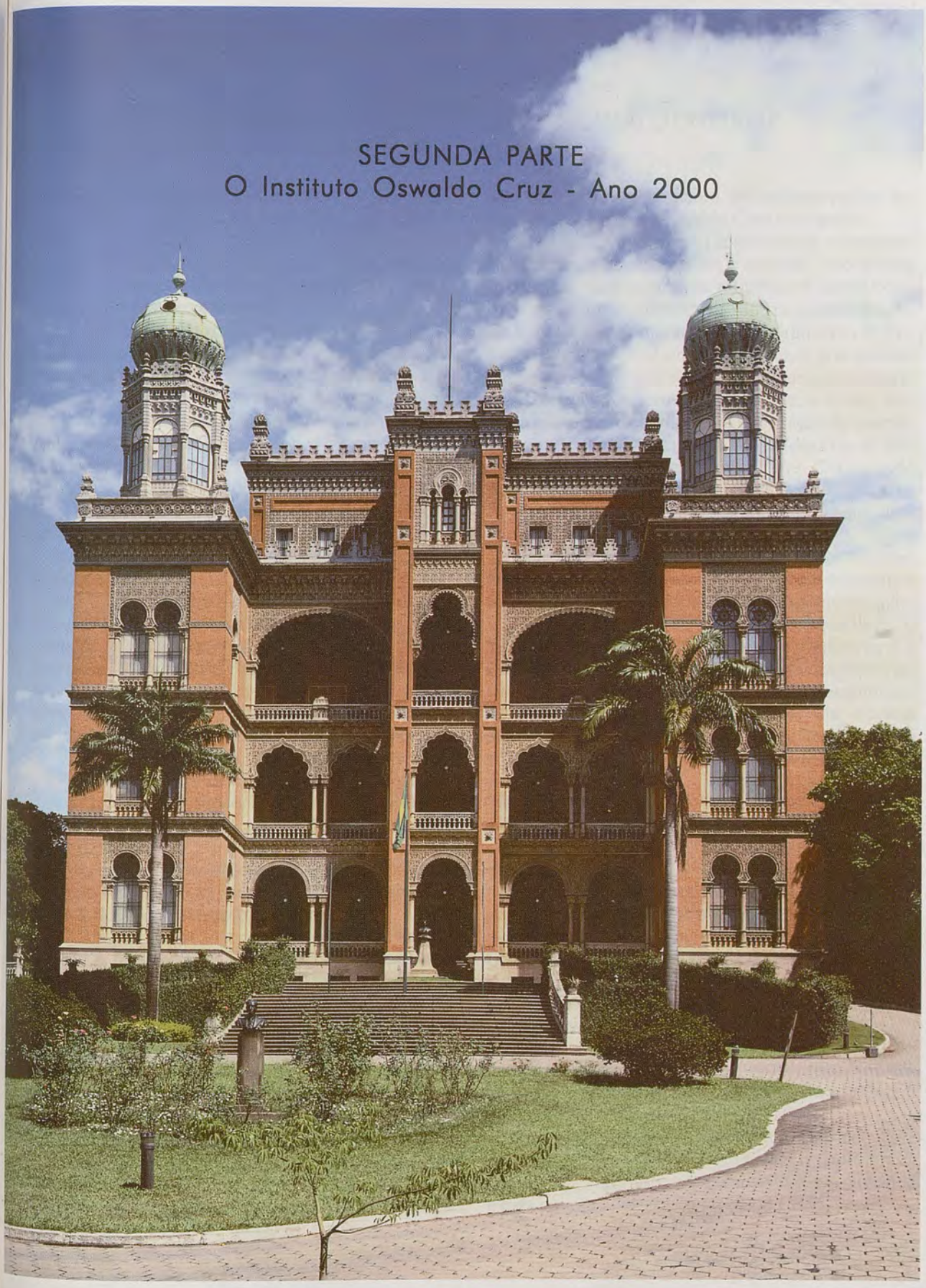


COMP.-LITH. YPIRANGA - S. PAULO - BIO

L. KATTENBACH E CASTRO SILVA DEL.

SEGUNDA PARTE

O Instituto Oswaldo Cruz - Ano 2000



SEGUNDA PARTE
O Instituto Oswaldo Cruz - Ano 2000

CENTENÁRIO DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

O Instituto Oswaldo Cruz, a mais completa e antiga unidade da Fundação Oswaldo Cruz, e a que lhe deu origem, está comemorando o seu centenário. Desde a sua fundação, até os dias atuais, o Instituto tem sido um templo para a ciência brasileira e estamos certos de que o será eternamente.

Criado, em 25 de maio de 1900, como "Instituto Soroterápico Federal" teve, desde o início, a sua vocação voltada para a pesquisa biomédica como base para a solução dos vários problemas de saúde pública que assolavam o nosso país, como a ameaça da peste bubônica, que entrava pelo porto de Santos, em São Paulo, no final do século XIX, da febre amarela e da varíola, que grassavam no Rio de Janeiro e em várias cidades portuárias brasileiras, impedindo o comércio com o exterior e até mesmo o desembarque de estrangeiros no Brasil, por serem os portos brasileiros considerados insalubres.

Os dois primeiros trabalhos publicados por Oswaldo Cruz, logo após a criação do Instituto, *Contribuição para o Estudo dos Culicídeos do Rio de Janeiro* e *A Vacinação Anti-pestosa*, em 1901, no *Brazil-Médico*, volume 15, números 43 e 45, respectivamente, demonstram claramente a sua dupla vocação para a pesquisa biomédica e para a saúde pública.

As descobertas e os inúmeros trabalhos desenvolvidos na Instituição levaram o Brasil, entre as 123 nações concorrentes, a ser contemplado com o primeiro lugar na Exposição Internacional de Higiene, realizada em Berlim, em 1907, e induziram o Congresso Nacional a homenagear Oswaldo Cruz, dando o seu nome ao nosso Instituto, pelo Decreto do Poder Legislativo nº1802, de 12 de dezembro de 1907.

O Templo para a Ciência, simbolizado pelo Castelo Mourisco, foi mandado construir por Oswaldo Cruz, a partir de 1904, na colina da fazenda de Manguinhos, no Rio de Janeiro, para demonstrar ao mundo a nova ordem da saúde pública brasileira. Como o Palácio do Alhambra, da "cidadela vermelha", na colina de Sabika, se debruça sobre Granada, na Espanha, o nosso Castelo debruçava-se sobre o mar. Algumas semelhanças entre os dois palácios como a arquitetura muçulmana-mourisca, o estilo hispano-árabe dos séculos IX a XIII, detalhes do tipo de mosaico e cerâmica, do estuque esculpido e da madeira trabalhada e encerada, fazem suspeitar que o Castelo de Manguinhos teria sido inspirado no Alhambra, entretanto, não existem provas sobre o pensamento de Oswaldo Cruz na ocasião.

O nosso Templo para a Ciência é hoje representado por quinze departamentos e sessenta laboratórios de pesquisa, doze centros de referência e quatro coleções institucionais, com mais de 350 pesquisadores, na sua maioria com doutorado; um Departamento de Ensino com mais de 600 alunos em nível de pós-graduação (mestrado e doutorado), aperfeiçoamento, especialização, iniciação e vocação científica; e a mais moderna e importante revista para publicação de pesquisas biomédicas da América Latina, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, criada em 1909. O Curso de Aplicação de Manguinhos, também criado em 1909, pode ser considerado como a primeira pós-graduação formal desenvolvida no Brasil.

No raiar do século XXI, reverenciamos o nosso Instituto, com o mesmo entusiasmo e com as mesmas esperanças do seu criador no início do século passado.

Além de um orgulho para a ciência brasileira, o Instituto Oswaldo Cruz é um dos mais produtivos dos institutos nacionais de pesquisa e vem apoiando diversas unidades, não somente na Fiocruz – Biomanguinhos, na produção de vacinas contra febre amarela, e outras de importância em saúde pública, Farmanguinhos, na produção de medicamentos básicos para o Ministério da Saúde, o Instituto de Controle de Qualidade e o Fernandes Figueiras – como também universidades brasileiras e estrangeiras com as quais colabora.

Os doze centros de referência do Instituto para o diagnóstico de febre amarela, viroses respiratórias, sarampo, hepatites por vírus, diarréias infecciosas, responsáveis pela grande mortalidade infantil, hanseníase, leptospiroses e de vetores da malária, da doença de Chagas, da esquistossomose e das leishmanioses, prestam um apoio fundamental à Fundação Nacional de Saúde e aos laboratórios de saúde pública de todos os estados brasileiros.

Desenvolvendo pesquisas no interior do Brasil, do Amazonas ao Rio Grande do Sul, no Nordeste, no Centro-Oeste e na Amazônia, o Instituto Oswaldo Cruz é uma verdadeira instituição de integração nacional.

Por todos esses motivos o Instituto Oswaldo Cruz é merecedor da reverência e do apoio da nação brasileira, e é um orgulho para o nosso Ministério da Saúde e para a própria Fundação Oswaldo Cruz.

José Rodrigues Coura
Diretor do Instituto Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

DIRETOR

VICE-DIRETORES

PESQUISA
ENSINO
SERVIÇOS DE REFERÊNCIA

CONSELHO DELIBERATIVO

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

SUBUNIDADES TÉCNICAS DEPARTAMENTOS

- BACTERIOLOGIA
- BIOLOGIA
- BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
- ENSINO
- ENTOMOLOGIA
- FISIOLOGIA E FARMACODINÂMICA
- GENÉTICA
- HELMINTOLOGIA
- IMUNOLOGIA
- MALACOLOGIA
- MEDICINA TROPICAL
- MICOLOGIA
- PATOLOGIA
- PROTOZOOLOGIA
- ULTRA-ESTRUTURA E BIOLOGIA CELULAR
- VIROLOGIA

SERVIÇOS TÉCNICOS ADMINISTRATIVOS

- CÂMARAS TÉCNICAS
- COMISSÃO DE ESPAÇO
- COMPRAS
- EVENTOS CIENTÍFICOS
- INFORMÁTICA
- ORÇAMENTO
- PESSOAL
- SECRETARIA

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGIA

HISTÓRICO

Laboratório de Enterobactérias

As atividades do Laboratório foram iniciadas no final da década de 20 quando Gomes de Faria e Genésio Pacheco efetuaram a caracterização de *Salmonella, Shigella* e *Entamoeba histolytica* em quadros disentéricos, de etiologia controversa, ocorridos na cidade do Rio de Janeiro.

Entre 1940 e 1950, Gobert Araújo Costa foi integrado à equipe, tendo implementado, a partir dos anos 60, novas linhas de investigação, entre as quais, a família Enterobacteriaceae.

Do grupo orientado até 1990, ressalta-se o papel desempenhado por Ernesto Hofer, responsável pela continuidade do estudo em enterobactérias e pela análise da família Vibrionaceae, com o desenvolvimento de projetos de pesquisa, em parceria com outras instituições, além de atuar na formação de recursos humanos.

O reconhecimento desse trabalho se deu através do Ministério da Saúde com a criação do Laboratório de Referência Nacional para o Diagnóstico Laboratorial de Cólera, no inicio da década de 70, em decorrência da expectativa do hemisfério ocidental ser atingido pela sétima pandemia. Com o declínio da epidemia de cólera, em 1979, na África e outras regiões do mundo, sem envolver a América Latina, as atividades do Ministério da Saúde regrediram até uma fase silente. Entretanto, as atividades laboratoriais tiveram continuidade, amealhando durante as duas últimas décadas, conhecimentos bacteriológicos, epidemiológicos e ecológicos, que resultaram na formação de recursos humanos e na produção científica.

Esta posição de destaque no cenário nacional foi reconhecida pelo Ministério da Saúde, efetivando seu recredenciamento em 1991, assim como pela Organização Pan-americana de Saúde, na questão do controle da cólera na Bolívia. No período de reintrodução da cólera no Brasil, em sua fase de disseminação para todo o território nacional, durante as visitas técnicas e/ou assessorias realizadas, a orientação dada para todos os laboratórios pertencentes à Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública foi, paralelamente às atividades de pesquisa do vibrião colérico, a de ampliar o diagnóstico, visando avaliar a participação de outros enteropatógenos.

Na década de 80 foi criado o Centro de Referência Nacional para Febre Tifóide para ofertar uma visão panorâmica sobre o perfil da *S. typhi* no Brasil. Durante esse período, estendeu suas ações com a identificação de outros sorovares de *Salmonella* isolados em todo território nacional e oriundos de diferentes fontes de isolamento, oferecendo uma visão panorâmica sobre essa nosologia em nosso meio e permitindo inclusive a caracterização de novos sorovares de *Salmonella* sp.

Em 1994, conforme acordo estabelecido com o Ministério da Saúde, efetivou-se a fusão do Laboratório de Referência Nacional para Diagnóstico Laboratorial de Cólera e do Centro de Referência Nacional de Febre Tifóide, com a atual denominação de Centro de Referência Nacional de Cólera e outras Enteroinfecções Bacterianas (CRNCEB).

O empreendimento efetuado durante as décadas de 70 e 80 representou papel fundamental para a formação dos profissionais que atualmente integram o Laboratório e atuam em diferentes linhas de pesquisa. Dentro deste escopo, estão incluidos estudos básicos que envolvem características intrínsecas dos microrganismos; análise de espécimes clínicos, soros de pacientes ou amostras encaminhadas para confirmação diagnóstica e realização de ensaios complementares; identificação de amostras bacterianas ou espécimes clínicos associados com infecções hospitalares; identificação de patógenos de ocorrência esporádica; definição da etiologia em surtos epidêmicos; monitoramento da resistência antimicrobiana de patógenos isolados em todas as regiões do país; monitoramento de microrganismos isolados de alimentos ou meio ambiente, entre outros.

Tais atividades têm levado, ao longo do tempo, à integração com diferentes instituições internacionais citando-se a participação no Programa de Monitoramento de *Salmonella* sp. em colaboração com o *Public Health Laboratory Service*, Colindale; o estudo de patógenos emergentes e reemergentes e

monitoramento da resistência aos antimicrobianos, dentro de um programa da Organização Mundial de Saúde, em parceria com o *Laboratory Centre for Diseases Control*, Canadá; e o estudo comparativo intra-amostras de *Vibrio cholerae* isoladas no Brasil e na Índia, em parceria com o *National Institute of Cholera & Enteric Diseases*, Calcutta, Índia.

O desenvolvimento de projetos de pesquisa, em parceria com instituições nacionais e internacionais, tem permitido ao grupo fortalecimento, obtenção de dotações extraorçamentárias, atualização contínua e acompanhamento da evolução nas distintas áreas. Por outro lado, mantém a formação de recursos humanos, através de treinamentos de curta e/ou longa duração, nos diferentes níveis, com participação no programa de vocação científica, qualificação de profissionais de nível médio, de iniciação, aperfeiçoamento, mestrado e doutorado.

As diferentes atividades do Laboratório, incluindo-se suas linhas de pesquisa básica ou aplicada, assim como suas atuações como entidade de referência regional, nacional ou internacional, têm acumulado um acervo de amostras bacterianas, com linhagens padrão e nativas das famílias Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Aeromonadaceae e dos gêneros *Staphylococcus, Streptococcus, Bacillus* e *Clostridium*, além de cepas, isoladas desde a década de 30, que constituem um verdadeiro banco de biodiversidade microbiana, cedidas eventualmente para diversas instituições, com utilização em diferentes linhas de investigação em pesquisa básica, aplicada e também nas interfaces em biotecnologia. Esta coleção, designada Bacterioteca do Instituto Oswaldo Cruz, contém em seu acervo as coleções de Genésio Pacheco, Maria Luiza Palmeira e Ernesto Hofer. Apresenta um quantitativo estimado de 60.000 amostras, ao qual são incorporadas, anualmente, em média 7.000 diferentes cepas em função das atividades do Laboratório e do Centro de Referência Nacional de Cólera e outras Enteroinfecções Bacterianas.

Uma contínua colaboração entre laboratórios em nível local, estadual e federal representa um baluarte para o monitoramento, prevenção e controle de doenças infecciosas. Esses laboratórios apresentam distintas responsabilidades e as respostas somente são dadas, como resultados obtidos, a partir do cumprimento, por cada parte, de sua missão que inclui um grupo de trabalho unido, boa comunicação e cooperação.

Laboratório de Fisiologia Bacteriana

O Laboratório está sediado no Pavilhão Rocha Lima, integrando com os outros dois laboratórios um dos mais antigos departamentos do Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Oficialmente foi inaugurado, juntamente com o prédio onde se situa, em 15 de fevereiro de 1967. Nessa época, o Pavilhão ganhou a denominação de Microbiologia e Imunologia e acolhia em todos os andares seções e laboratórios do IOC.

Em tal localização, o Laboratório permanece desde a época em que a orientação das suas atividades técnicas e científicas cabia a Golbert Araújo Costa, então Chefe da Seção de Microbiologia, depois Departamento de Bacteriologia. Posteriormente, passou para a orientação e chefia de Leon Rabinovitch, que para ele destinou e definiu linhas de trabalho que ainda hoje empregam bactérias do gênero *Bacillus*. *Coleção de Culturas do Gênero Bacillus*: trata-se de uma coleção de trabalho e serviço destinada a atender às áreas de pesquisa, ensino e produção, de clientela interna e externa à Fiocruz. *Formação de recursos humanos*: desde o início de suas atividades, o Laboratório colaborou e participou da formação de técnicos de laboratórios, dos níveis médio e superior. Igualmente, contribuiu para a formação de mestres e doutores que militam na pesquisa científica, ensino superior e indústrias de alimentos e farmacêutica. Alguns mestres e doutores exercem suas atividades na própria Fiocruz. Estima-se em cerca de 65 o número de indivíduos que são egressos do Laboratório, considerando-se estagiários, bolsistas diversos, alunos universitários, técnicos de indústrias, pesquisadores e professores.

Nos últimos anos, o Laboratório tem oferecido dois créditos através da disciplina Controle Biológico de Insetos Vetores de Doenças: Bactérias Entomopatogênicas, cujos professores ministram-na anualmente para os cursos de pós-graduação do IOC e para o Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração Parasitologia Veterinária, da UFRRJ.

O Laboratório, através de seus integrantes e com o apoio do IOC e da Fiocruz, teve uma participação fundamental na organização e realização da primeira e da sexta edições, respectivamente nos anos de 1988 e 1996, de importante simpósio especializado, de cunho internacional, conhecido em todo o país pela sigla de Sincobiol, ou seja, Simpósio de Controle Biológico.

Laboratório de Zoonoses Bacterianas

O Laboratório foi constituído e credenciado em 1992, reunindo setores temáticos do Departamento, antes isolados, mas caracterizados pelo desenvolvimento perene de várias linhas de investigação. O produto resultante das atividades, nos últimos vinte anos, veio favorecer a consolidação do grupo, graças ao destacado acervo científico implementado, tanto na esfera de produção como na formação de

pessoal. Salienta-se o pioneirismo das linhas de investigação sobre *Listeria* e *Leptospira* no Brasil, e até certo ponto de *Campylobacter*, o que torna o Laboratório um dos raros pontos em nosso país que propicia o suporte e a consultoria científica a inúmeras instituições públicas e privadas de saúde, ensino e pesquisa.

A breve descrição do Laboratório se assemelha, em muitos aspectos, à própria história da Instituição da qual faz parte, cuja sobrevivência e crescimento deve muito ao esforço de um grupo de pesquisadores e técnicos que, no seu cotidiano de busca e transferência de conhecimentos, procurou também atender às necessidades da população. Dos serviços prestados à comunidade, considerados de excelência, resultou, por exemplo, a obtenção de amostras de diferentes fontes e procedências, constituindo-se num acervo fundamental para o desenvolvimento científico e o tecnológico.

O Laboratório congrega diversas linhas de pesquisa incluindo as atividades do Centro de Referência Nacional para Leptospirose, credenciado, desde 1988, pelo Ministério da Saúde.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

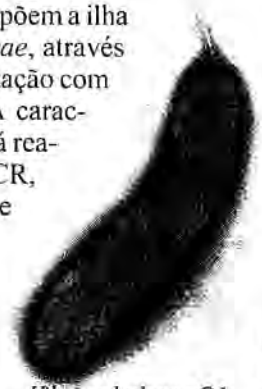
Laboratório de Enterobactérias

Estudos de fatores de virulência em espécies de Vibrio importantes em patogenia humana – A participação de diferentes espécies de *Vibrio*, em patologia humana, tem impulsionado a realização de inúmeras investigações voltadas para o reconhecimento de sua circulação e de seus fatores de virulência. Objetivos: considerando a grande faixa litorânea de nosso país e a utilização do pescado como alimento, a carência de saneamento básico e ainda a permanência da cólera como nosologia endêmica em algumas regiões, esta investigação pretende avaliar, em diferentes espécies da família Vibrionaceae, envolvidas em processos patognômicos humanos, isoladas de diferentes fontes, características do ponto de vista bacteriológico, ecológico, epidemiológico e fisiopatológico, utilizando ferramentas de biologia clássica e molecular. Resultados: 1) na lisotipia de *V. cholerae* O1, através da utilização de dez preparados fágicos oriundos do Niced, Índia, foram observados perfis distintos em 27% das amostras; 2) na análise dos sorotipos circulantes de *V. cholerae*, isolados de amostras de origem humana e ambiental, ressalta-se a prevalência de O34, O6, O10 e O11 entre as de origem humana, isoladas em diferentes regiões do país. Na caracterização de seus fatores de virulência, foram pesquisadas as presenças das enzimas hemolisina (teste clássico e Camp), elastase, colagenase, condroitinase, lipase, lecitinase, amilase, e das toxinas CT e NAG-ST; 3). O estudo voltado para a avaliação de *V. parahaemolyticus* permitiu determinar, em amostras de pescado, usualmente consumido *in natura*, que as mesmas se encontravam dentro dos padrões existentes na legislação para comercialização. Contudo, das 187 cepas isoladas e tipificadas antigenicamente, 71% foram produtoras de urease, que é indicativa de TDH e TRH, hemolisinas a serem pesquisadas através da técnica de PCR. Entre as amostras de origem humana analisadas, oriundas de diferentes regiões do país, a presença desta enzima bem como de TDH foi detectada em 85% dos isolados; 4) *V. vulnificus*, patógeno reconhecido por seu elevado índice de mortalidade, foi detectado em 53% das ostras comercializadas em restaurantes da cidade do Rio de Janeiro; 5) foram encaminhados três artigos para publicação.

Monitoramento da resistência bacteriana aos antimicrobianos em enteropatógenos – No Brasil, as enteroinfecções bacterianas constituem sério e complexo problema em saúde pública, reconhecido inclusive pelo Centro Nacional de Epidemiologia do Ministério da Saúde. A inexistência no país de um banco de informações sobre a distribuição/ocorrência de patógenos e seu perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, cobrindo as últimas décadas, vem dificultando a adoção de medidas profiláticas e de controle. Objetivos: 1) obtenção de um traçado sobre a evolução da resistência, em enteropatógenos isolados nas três últimas décadas, com ênfase nos chamados agentes emergentes e reemergentes; 2) monitoramento da resistência aos antimicrobianos em *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *V. cholerae*, *Aeromonas* sp. e *Escherichia coli* isolados de diferentes fontes e regiões do país recebidas pelo CRNCEB e/ou isoladas no Laboratório; 3) manutenção do banco de dados contendo todas as informações epidemiológicas recebidas, assim como os aspectos pesquisados, para ficarem disponíveis aos órgãos públicos. Resultados: 1) foi efetuada a avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos em todas as amostras de *V. cholerae* O1 isoladas no período de 1991 a 1999; 2) inclusão e atualização do banco de dados sobre *V. cholerae* O1, não O1 e monitoramento de sua resistência; 3) monitoramento da resistência aos antimicrobianos em amostragem representativa de *Salmonella* sp. isolada no período de 1995 a 1999; 4) criação de banco de dados para *Salmonella* sp., contendo todas as informações epidemiológicas das amostras recebidas (número aproximado de 8.000/ano) e do perfil de resistência das amostras analisadas; 5) monitoramento da resis-

tência em todas as amostras de *Shigella* sp. recebidas para confirmação de diagnóstico e inclusão em banco de dados; 6) monitoramento da resistência antimicrobiana em todas as amostras de *Aeromonas* sp. e inclusão em banco de dados; 7) foram encaminhados dois artigos para publicação.

Caracterização molecular de amostras de Vibrio cholerae – Objetivos: caracterizar, ao nível molecular, amostras clínicas e ambientais de *V. cholerae* O1 e não O1, isoladas de diferentes regiões do país (período pré-epidêmico, epidêmico e pós-epidêmico), bem como obter informações quanto à relação genética entre as amostras circulantes em nosso meio. Para isto, propomos investigar a presença dos genes que codificam para a produção de toxinas, bem como outros genes de virulência que compõem a ilha de patogenicidade de *V. cholerae*, através de técnicas de PCR e de hibridização com sondas genéticas específicas. A caracterização ao nível genômico será realizada empregando-se BOX-PCR, ribotipagem e/ou eletroforese de campo pulsado (PFGE). Resultados: esta linha de pesquisa encontra-se em fase inicial, na qual estamos realizando os reisolamentos e a confirmação sorológica das amostras.



Vibrio cholerae O1

Monitoramento da etiologia bacteriana das enteroinfecções no Brasil – Apesar da ausência de dados estatísticos precisos e atuais, as últimas pesquisas revelam que as doenças infecciosas e parasitárias intestinais constituem a terceira maior causa de óbitos em crianças com até um ano de idade, atingindo principalmente a Região Nordeste, com vasta extensão territorial, com a mais baixa concentração de renda do país, com reduzida oferta de condições básicas de saneamento e com elevados índices de desnutrição. Por outro lado, a Região Sudeste, caracterizada como mais desenvolvida, apresenta concentrações cada vez mais elevadas de aglomerados urbanos em favelas, infra-estrutura sanitária precária, propiciando a disseminação de infecções entéricas. Deste modo, representam grande preocupação, do ponto de vista de saúde pública, sendo responsáveis por elevado índice de morbidade e mortalidade, principalmente em crianças com faixa etária inferior a cinco anos de idade. Objetivos: 1) avaliar a distribuição dos diferentes enteropatógenos, assim como a incidência e/ou prevalência, de acordo com sua região de origem; 2) estudar a inter-relação entre amostras de enteropatógenos bacterianos isolados de diferentes fontes e regiões do país; 3) ofertar subsídios, para o diagnóstico laboratorial das enterobacterioses, à Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública, através da produção e distribuição dos antissoros necessários ao diagnóstico laboratorial definitivo destes agentes; 4) implementar a coleção de culturas bacterianas do Laboratório. Resultados: 1) no gênero *Shigella*, os resultados apontam maior freqüência dos sorogrupos *S. flexneri* e *S. sonnei*; 2) em *Salmonella* sp., os sorovares de maior incidência, entre os isolados de origem humana, são *S.* Enteritidis, *S.* Infantis (Sudeste e Sul); *S.* Agona e *S.* Brandenburg (Nordeste) e *S.* Enteritidis e *S.* Agona (Centro-Oeste); 3) os resultados apontam aumento na incidência de *Aeromonas* sp., particularmente *A. hydrophila*, entre amostras isoladas de fontes humana, ambiental e oriundas de surtos (epizootias) em diferentes espécies de peixes de cativeiro; 4) a produção e a distribuição de antissoros para diagnóstico de enteropatógenos têm atendido às solicitações efetuadas pelos laboratórios da Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.

Análise bacteriológica, molecular e epidemiológica de cepas bacterianas envolvidas em infecção hospitalar – A variabilidade das espécies bacterianas envolvidas nas infecções hospitalares, assim como o aparecimento de cepas multirresistentes são aspectos relevantes. Já em 1986, 50% dos *S. aureus* isolados de hospitais universitários eram resistentes à meticilina. No que tange aos Gram negativos, é alarmante o aumento na freqüência de cepas de *P. aeruginosa, A. baumannii* e *K. pneumoniae* multirresistentes. Para identificar um surto hospitalar é necessário um bom delineamento epidemiológico e uma boa instrumentação laboratorial para comprovar a identidade das cepas. Nos últimos anos microbiologistas e epidemiologistas têm aplicado métodos moleculares para compreender a distribuição de bactérias em hospitais. Assim, os testes de análise de DNA cromossomal, em particular o PFGE, surgem como sendo os métodos mais específicos e sensíveis na discriminação de cepas. Objetivos: 1) realizar a vigilância epidemiológica com dados clínicos dos pacientes e determinar a freqüência de bactérias envolvidas em infecção hospitalar; 2) monitorar a presença de *S. aureus* resistentes à meticilina, bactérias Gram negativas fermentadoras e não fermentadoras multirresistentes; 3) aplicar os métodos de análise de DNA plasmidial e cromossomal no rastreamento de cepas envolvidas em infecção hospitalar; 4) contribuir para o conhecimento dos diversos clones de bactérias nas enfermarias; 5) intervir no controle de infecção hospitalar e surtos. Resultados: 1) as 534 cepas bacterianas

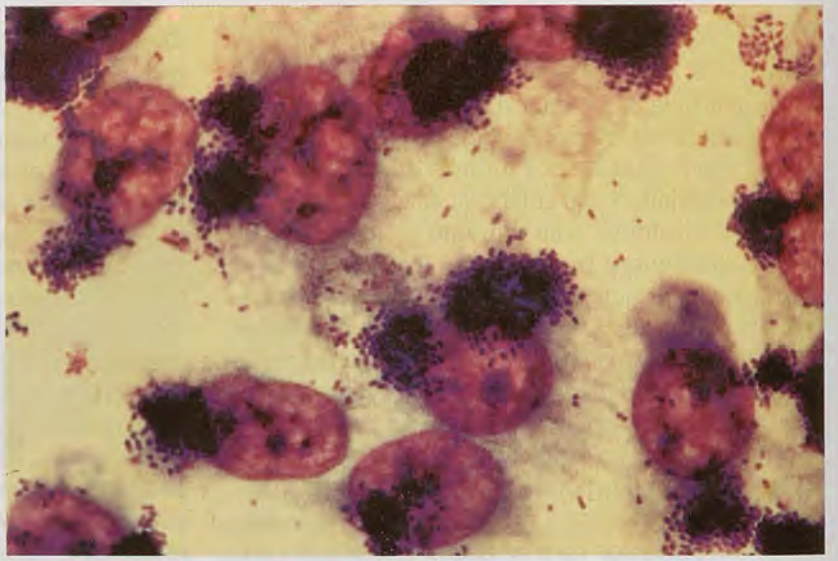
isoladas de casos de infecção hospitalar, foram identificadas; 2) foi realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos de todas as cepas; 3) foram digitados e analisados os dados epidemiológicos de 426 pacientes envolvidos com infecção hospitalar, de acordo com a idade média, sexo, média de internação, uso, tempo de uso e tipo de antimicrobianos antes da cultura, média de infecção por paciente, casos de infecção polimicrobiana, principais condições de risco; 4) foi realizada a análise de DNA plasmidial de cepas dos gêneros *Salmonella* e *Klebsiella*; 5) foi realizado o método de PFGE para *S. aureus*, que está em execução para *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. aerogenes* e *S. marcescens*; 6) dois trabalhos estão sendo encaminhados para publicação.

Diarréia bacteriana por Salmonella: sorovares e resistência a antimicrobianos – A diarréia continua a ser uma das grandes doenças de alto índice de morbi-mortalidade no Brasil. O Laboratório tem realizado, nos últimos quatro anos, um estudo sistemático, em colaboração com o Departamento de Virologia, com o intuito de identificar os agentes etiológicos bacterianos e virais envolvidos em diarréia em pacientes de hospitais, comunidades, creches e escolas. Objetivos: avaliar a freqüência de *Salmonella* isoladas de casos de diarréias isoladas de crianças de diversas regiões do estado do Rio de Janeiro, de origem hospitalar ou de creches, bem como monitorar o perfil de resistência a antimicrobianos. Do ponto vista epidemiológico, pretende-se correlacionar a presença ou ausência desses microrganismos com os dados clínicos das crianças estudadas. Resultados: 1) as 114 (8,14%) cepas isoladas de 1.400 coproculturas pertenceram a nove sorovares: 54 (47,4%) Infantis, 45 (38,5%) Agona, 7 (6,1%) Enteritidis, 2 (1,8%) Typhimurium, 2 (1,8%) Derby, 1 (0,9%) Hadar, 1 (0,9%) Mbandaka, 1 (0,9%) Newport e 1 (0,9%) Oranienburg; 2) das *Salmonellas*, 60,6% foram isoladas em crianças de até um ano; a média de dias de diarréia foi de 8,3 dias; 44,4% das crianças eram do sexo feminino e 55,6% do sexo masculino; 77,8% fizeram uso de antimicrobianos antes da cultura; 46,7% apresentavam muco nas fezes; 12% apresentavam sangue nas fezes; 54,7% tiveram vômitos; e 21,7% tiveram dor abdominal. Das cepas de *S.* sorovar Infantis, 98% apresentaram multirresistência para ampicilina, cefalotina, cefazolina, ceftriaxona, cefuroxima, gentamicina, amicacina, cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim e tetraciclina; todas foram sensíveis para ciprofloxacina, cefoxitina e uma foi resistente para imipenem; 90% das *S.* Agona tiveram perfil semelhante, ou seja, todas foram sensíveis para imipenem e ciprofloxacina. Os outros sorovares estudados foram sensíveis para todos os antimicrobianos citados acima. Este estudo tem revelado uma mudança na prevalência dos sorovares de *Salmonella*; na década de 80 e início da de 90 existia uma freqüência maior do sorovar Typhimurium, com percentual elevado de multirresistência. Constatamos uma mudança na prevalência dos sorovares, com uma predominância de 90% dos sorovares Infantis e Agona e raramente se determinou o Typhimurium. Revela-se, ainda, que estes sorovares também têm um potencial de virulência importante, principalmente, no ambiente hospitalar, onde foram detectados dois surtos de infecção hospitalar, provocados por cepas multirresistentes, ambos em berçário.

Estudo da correlação das infecções pelo Treponema pallidum ssp. Pallidum e HIV: aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais e terapêuticos – As relações entre sífilis e HIV são complexas, com várias áreas de possível interação. Uma doença poderia ser, teoricamente, potencializada pela presença da outra. Pacientes infectados pelo HIV e portadores de sinais clínicos de sífilis, podem ter as manifestações laboratoriais ou a resposta ao tratamento para a sífilis modificadas. Nos pacientes com HIV, a sífilis pode ter um curso acelerado, a resposta à infecção pode estar bloqueada e as falhas no tratamento podem ocorrer mais comumente. O diagnóstico laboratorial tem base nos testes sorológicos, demonstração microscópica do *T. pallidum* e, mais recentemente, na detecção do antígeno pelo método de PCR. Objetivos: 1) determinar a prevalência de sífilis em pacientes HIV+ e HIV-; 2) correlacionar os efeitos da infecção pelo HIV com as manifestações sorológicas e resposta ao tratamento da sífilis; 3) diagnosticar, com maior sensibilidade e especificidade, a infecção sifilítica com o método de PCR; 4) correlacionar os níveis de CD4 e CD8 e carga viral com as manifestações clínicas dos pacientes HIV+ com sífilis. Resultados: 1) a prevalência de sífilis foi mais significativa ($p<0,05$) nos pacientes HIV+ que nos HIV-, com 26,7% contra 10,4%; 2) as características demográficas estatisticamente significantes, associadas com o risco de aquisição da infecção sifilítica nos grupos HIV+/-, foram: sexo masculino, renda, exposição ao HIV (homossexual e bissexual masculino), tipo de DST prévia, droga (alcoolismo e tabagismo) e nível de CD8; 3) as características não-significantes foram: idade, estado civil, profissão, ocupação, moradia, situação atual, escolaridade, heterossexual, uso de métodos de barreira, presença e tratamento de DST prévia, nível de CD4, critério de Caracas e CDC e carga viral de HIV; 4) correlacionando as manifestações clínicas da sífilis nos grupos HIV+/- não encontra-

mos significado estatístico quanto à fase da infecção, segundo resultados sorológicos, tanto para a fase recente (primária e secundária) quanto para a latente (terciária); 5) a presença clínica da infecção sifilítica foi mais significativa nos pacientes do grupo HIV+.

Epidemiologia e diagnóstico das infecções por Escherichia coli diarreiogênicas em crianças na cidade do Rio de Janeiro – Esta linha de pesquisa visa contribuir com informações quanto à ocorrência das diferentes categorias de *E. coli* diarreiogênicas em crianças na cidade do Rio de Janeiro, como também avaliar a possibilidade de utilização da técnica de PCR no diagnóstico destas infecções. Objetivos: 1) caracterizar, ao nível molecular, as amostras de *E. coli* isoladas de crianças com diarréia aguda e persistente, através de testes de hibridização com sondas genéticas específicas, que detectam fatores de virulência associados às diferentes categorias de *E. coli* diarreiogênicas; 2) caracterizar o padrão de adesão das amostras de *E. coli* isoladas frente a células HEp-2 cultivadas *in vitro*; 3) identificar os antígenos "O" (sorogrupo) e "H" (sorotipo) das amostras de *E. coli* isoladas; 4) utilizar a técnica de PCR para a identificação de amostras de *E. coli* diarreiogênicas, através da pesquisa de seqüências genéticas associadas à enteropatogenicidade. Resultados: 1) para a determinação da freqüência de isolamentos de *E. coli* diarreiogênicas em nosso meio, foram coletadas amostras clínicas (swabs retais) de 203 crianças, sendo 123 com diarréia aguda e 80 com diarréia persistente, atendidas no Hospital Municipal Jesus, no período de agosto de 1997 a janeiro de 1999. Após o processamento, através de provas clássicas de isolamento e identificação, as amostras de *E. coli* estão sendo submetidas a testes de hibridização de colônias, com as seguintes sondas genéticas: EAF, *bfpA* e *eae* (EPEC); LT-I, LT-II, STh (ETEC); pAA (EAEC); F1845 (DAEC); INV (EIEC); pEHEC, Stx1 e Stx2 (STEC/EHEC). Em paralelo, as amostras estão sendo analisadas quanto ao padrão de adesão em cultura de células HEp-2. Até o momento, os testes de hibridização mostram uma positividade de 23% para a sonda pAA (adesão agregativa), seguida de 17,8% para F1845 (adesão difusa). Por outro lado, nenhuma das amostras reagiu com a sonda Stx1. Resultados: 1) os resultados dos testes de adesão mostram um predomínio (45%) do padrão característico de adesão agregativa. Os demais resultados encontram-se em andamento; 2) para o diagnóstico laboratorial das infecções por *E. coli* diarreiogênicas através da técnica de PCR, foram analisadas 210 amostras clínicas (swabs retais) de crianças até cinco anos de idade, oriundas de diversos hospitais e clínicas da cidade do Rio de Janeiro. Para isto, estamos empregando primers que amplificam seqüências específicas para os seguintes fatores de virulência: EAF, *bfpA* e *eae* (EPEC), LT-I e ST-I (ETEC), ipaH (EIEC) pAA (EAEC) e Stx (STEC/EHEC); 3) para as reações de amplificação, utilizamos um pool de colônias crescidas em meio de ágar MacConkey, das quais 126 (60%) apresentaram resultado positivo para pelo menos uma das características pesquisadas: 63 (pAA+), 37 (LT-I+), 36 (*eae*+), 12 (Stx+), 9 (*bfpA*+), 8 (ST-I+) e 8 (*ipaH*+). Estes resultados serão confirmados através da realização de novas reações de amplificação com as colônias de *E. coli* isoladas e através de testes de hibridização com sondas genéticas específicas.

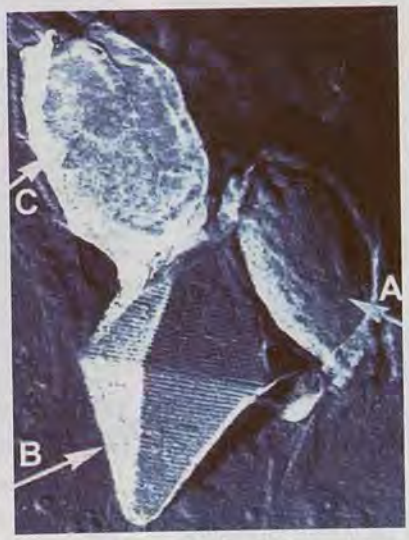


Adesão localizada de *Escherichia coli* enteropatogênica a células HEp-2

Marcadores epidemiológicos em Salmonella sp. – Dados do Laboratório e do CRNCEB-Fiocruz, mostram o aumento gradativo na incidência de *Salmonella* sp., isoladas de fonte humana, alimentar, ambiental e animal, nos últimos dez anos. Face à complexidade dos fatores envolvidos na sua disseminação, estão sendo pesquisados possíveis marcadores epidemiológicos, visando-se avaliar as características diferenciais das cepas circulantes. Objetivos: caracterizar nos sorovares de *Salmonella* de

maior prevalência à resistência aos antimicrobianos, biotipo, lisotipo, análise plasmidial e relação intra-amostras através das técnicas de RAPD-PCR, Multilocus e PFGE, objetivando definir uma estratégia para o rastreamento epidemiológico destes microrganismos, dada a emergência de alguns sorovares reconhecidos por sua importância na atualidade. Resultados: 1) entre as amostras de *S.* Enteritidis analisadas, foram caracterizados apenas dois biotipos e a lisotipia revelou maior freqüência dos lisotipos 4 e 8; 2) foram detectados plasmídios de alto peso molecular entre amostras de *S.* Enteritidis de origem humana; 3) a variação intra-amostras de *S.* Enteritidis através de RAPD-PCR revelou a presença de seis perfis distintos; 4) a avaliação em amostras de *S.* Enteritidis, de origem animal, isoladas durante as duas últimas décadas, mostrou resistência antimicrobiana em 37% das cepas, com capacidade de transferência destes marcadores em 12%; 5) em *S.* Hadar, isoladas a partir da década de 80, 78% apresentaram resistência antimicrobiana e baixa capacidade de transferência; sua análise plasmidial encontra-se em fase de execução; 6) em *S.* Typhi, isoladas a partir da década de 70, foram reconhecidos cinco tipos fágicos, sensibilidade total aos antimicrobianos, presença de plasmídios de alto peso molecular; 7) a agrupagem através de RAPD-PCR identificou 21 perfis genotípicos através da utilização de três iniciadores distintos.

Prevalência de sorovares de Salmonella sp. em amostras oriundas de diferentes fontes e regiões do país – O gênero *Salmonella* constitui um grande e heterogêneo grupo, amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado no solo, água, plantas, trato intestinal de seres humanos e animais de sangue quente e frio. Sua ocorrência nas diarréias infecciosas tem sido detectada mundialmente, com características etiológicas e epidemiológicas distintas nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. No Brasil, o monitoramento deste agente bacteriano é realizado pelo Laboratório e pelo CRNCEB, através da identificação antigênica conclusiva de cerca de 8.000 amostras recebidas anualmente, o que representa, provavelmente, uma amostragem de sua característica no país. Objetivos: o último esquema de Kauffmann-Write (1997) reconhece 2.435 sorovares de *Salmonella* capazes de infectar o homem e animais, sendo sua identificação de grande interesse epidemiológico, especialmente por estar voltada para o reconhecimento dos sorovares circulantes e prevalentes em nosso meio. Resultados: 1) nos últimos cinco anos, *S.* Enteritidis tem sido o sorovar de mais incidência nas amostras de origem humana, alimentar, ambiental e animal caracterizadas neste laboratório; 2) os isolamentos provenientes de matéria-prima e/ou rações, apresentam como prevalentes os sorovares *S.* Seftenberg e *S.* Bredeney; 3) as amostras de origem ambiental apresentam um maior aspecto de sorovares quando comparadas àquelas oriundas de outras fontes de isolamento; 4) foram publicados três artigos em revistas indexadas.



Bacillus entomopatogênicos após a lise celular. A: eporo bacteriano; B: cristal de ô-endoxina (corpo esporal); C: parede celular

Laboratório de Fisiologia Bacteriana

Isolamento, identificação e caracterização morfológica, bioquímica, fisiológica e molecular de bactérias entomopatogênicas do gênero Bacillus – Na abrangência de todas essas temáticas, bactérias consideradas inimigas naturais de insetos-praga e vetores são isoladas no Laboratório, a partir de uma grande diversidade de materiais incluindo insetos doentes e sadios. O objetivo é o de encontrar novas cepas com características genéticas ainda não conhecidas, mas capazes de incrementar os estudos de efetividade de atividade tóxica letal para insetos-praga e vetores de doenças para o homem. As novas bactérias são experimentadas em laboratório e em campo simulado. No decurso de vários programas estabelecidos, novos sorovares e sorotipos foram isolados no Laboratório e identificados e definidos pelo Instituto Pasteur de Paris. Estes novos sorovares figuram hoje na literatura especializada e são: *B. thuringiensis* sorovar *oswaldocruzi* (H 38), *B. thuringiensis* sorovar *brasiliensis* (H 39) e *B. sphaericus* sorotipo H 49.

O Laboratório mantém acordos formais e institucionais com entidades governamentais, objetivando tornar as pesquisas mais diversificadas e realistas.

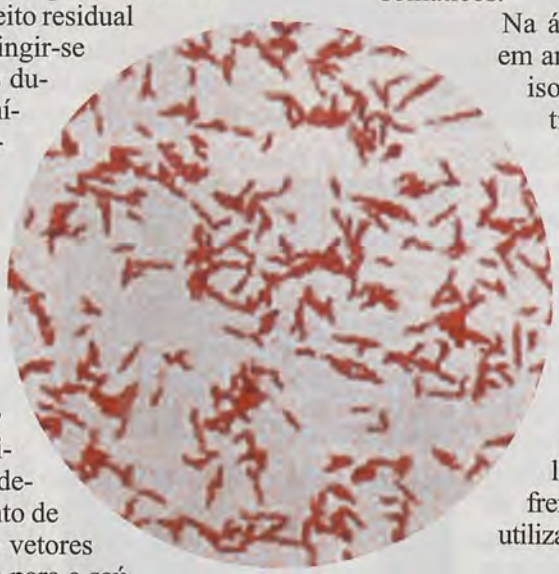
Fora da esfera dos *Bacillus* entomopatogênicos, uma cepa autóctone de *Bacillus* identificada e caracterizada no Laboratório, a partir de sedimento urinário, foi inserida na espécie *B. licheniformis*, # 2390. Tal bactéria, estudada entre nós como nova produtora do antibiótico polipepitídico bacitracina figura no catálogo da *American Type Culture Collection.*

Desenvolvimento de processos fermentativos para a produção de inseticidas – Ensaios objetivando conhecer os parâmetros que influenciam o processo de cultivo em nível de Erlenmeyer são transferidos para experimentos padronizados em escala maior, em fermentador New Brunswick. Assim, aumenta-se a produção de biomassas de células de *B. thuringiensis* e *B. sphaericus* que, depois de recuperadas do mosto de cultivo, são formuladas para a produção de inseticidas larvicidas.

Dois processos foram desenvolvidos no âmbito de um acordo oficial entre a Fiocruz (envolvendo este Laboratório) e a Inpal SA Indústrias Químicas, empresa privada que busca agora a produção em escala industrial. Dentro dessa linha de pesquisa, dois pedidos de patentes foram solicitados ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial: 1) Biocida para *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* e outros - Larvicida à base de endotoxinas de *Bacillus* com atividade específica contra Diptera. Patente nº PI 8900938. Depositante: Fiocruz. Concessão: 1998. 2) Composição bioinseticida produzida a partir de *B. sphaericus* e o respectivo processo de obtenção. Pedido nº PI 9501166, em 1995.

Formulação de biomassas para lenta liberação de inseticidas bacterianos à base de Bacillus e gêneros correlacionados – A presente linha objetiva desenvolver estudos que permitam obter, como resultados, formas sólidas ou líquidas de inseticida larvicida dotado de efeito residual ampliado. Isto significa atingir-se uma ação específica mais duradoura, por exemplo um mínimo de ação durante sessenta dias. Esses estudos estão em fase inicial.

Avaliação da atividade biológica de cepas de Bacillus entomopatogênicos sobre dípteros (moscas, mosquitos e simulídeos) e moluscos – Objetiva avaliar a toxicidade de novas cepas que derivam do item deste conjunto de linhas sobre um grupo de vetores de doenças de importância para a saúde pública. Isto inclui mosquitos do gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*; espécies de simulídeos do gênero *Simulium*; moscas do gênero *Chrysomya* e moluscos do gênero *Biomphalaria*.



Coloração de Gram de *Campylobacter* sp.

Efeitos histopatológicos de endotoxinas de Bacillus thuringiensis em larvas de Simulium sp. – Tem a finalidade de observar os sítios de ligação das endotoxinas bem como os danos causados por elas no epitélio intestinal de larvas de *Simulium* sp. Os estudos estão em fase inicial.

Laboratório de Zoonoses Bacterianas

Na área de listeriose o Laboratório desenvolve as seguintes pesquisas:

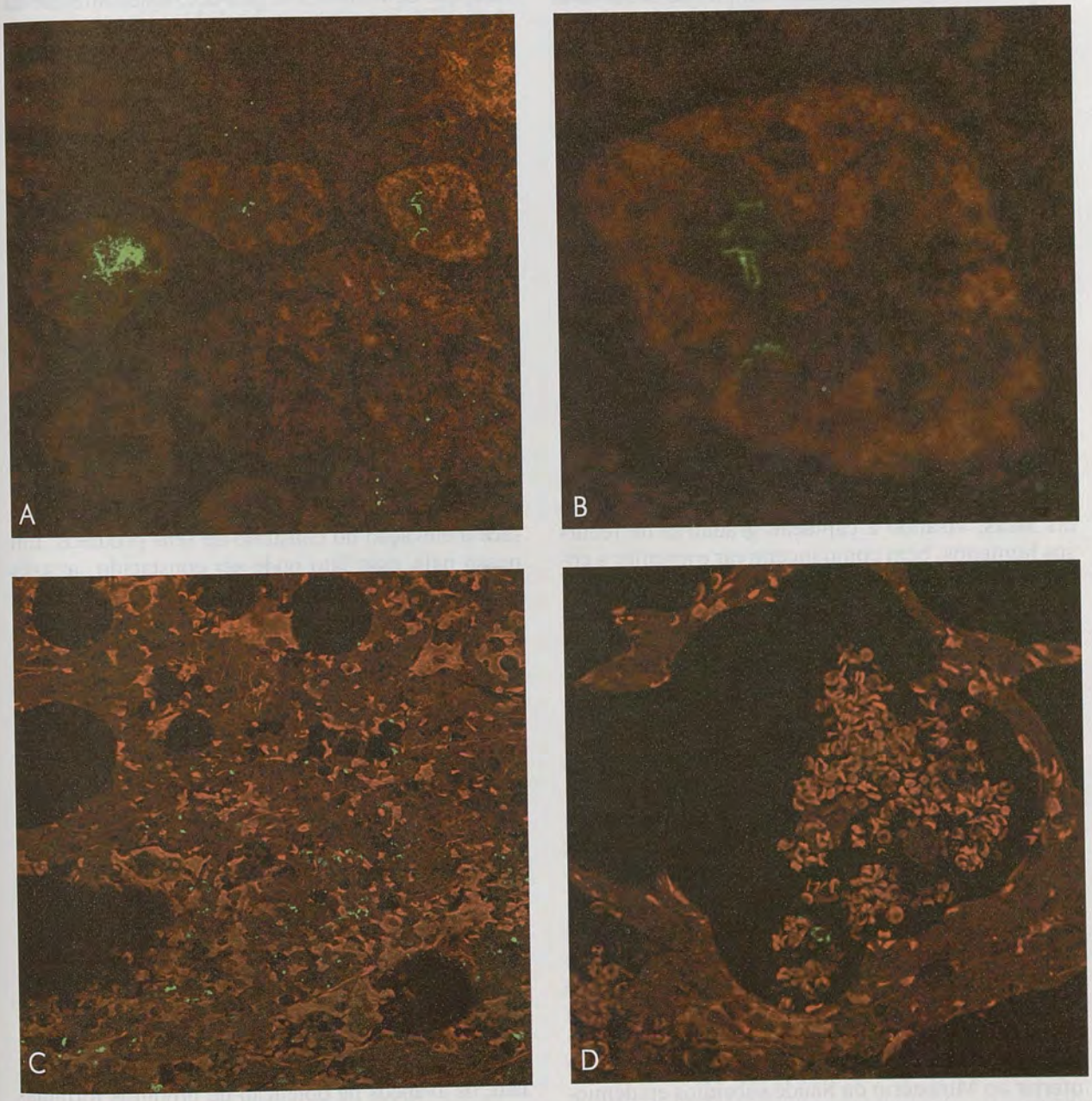
Listeria: análises bacteriológica, epidemiológica, ecológica e de biologia molecular – Visa angariar os conhecimentos sobre as caracterizações fenotípicas e genotípicas de membros do gênero *Listeria*, com ênfase na espécie patogênica *L. monocytogenes*, inclusive acompanhando e confrontando a suscetibilidade aos antimicrobianos das amostras isoladas de diferentes fontes de infecção e vias de transmissão. Do ponto de vista epidemiológico, procurou-se retratar a importância da *Listeria* nas várias fontes, diante da possibilidade de propagação para a espécie humana. Na ecologia, os estudos se concentraram na caracterização e distribuição de espécies, sorogrupos, sorovares e lisotipos de *Listeria*, particularmente oriundas de alimentos e do meio ambiente. Um ponto fundamental refere-se aos serviços prestados à comunidade científica nacional, de longa data, na identificação de espécies, sorogrupos e sorovares do gênero *Listeria*, assim como o fornecimento regular de amostras-padrão e de antissoros somáticos.

Na área de campilobacteriose estão em andamento as seguintes linhas: 1) isolamento e caracterização fenotípica de *Campylobacter* spp. de materiais de origem humana, animal e ambiental (implementação de técnicas); 2) padronização de técnicas para caracterização molecular de espécies de *Campylobacter* originárias de diferentes fontes (implantação de técnicas); 3) avaliação do perfil de resistência das amostras isoladas e em isolamento deste microrganismo, frente a antimicrobianos comumente utilizados.

Provas de patogenicidade e virulência de Campylobacter sp. – Compreende-se que a realização de estudos epidemiológicos e o desenvolvimento de métodos que simplifiquem o diagnóstico, a caracterização e a manutenção das cepas, constituem-se nas linhas de pesquisa fundamentais para subsidiar ações de controle da campilobacteriose.

Na área de leptospirose são desenvolvidos projetos de pesquisa vinculados a grandes áreas temáticas como epidemiologia, bacteriologia e imunopatologia. Tal diversificação ocorre em função das necessidades e características próprias de um Centro de Referência Nacional, cujas atividades de prestação de serviços ampliam o potencial de cooperação técnico-científica entre diversas instituições no país e no exterior.

Em relação à epidemiologia, os estudos consistem, basicamente, na colaboração em investigações de surtos epidêmicos, análise estatística e epidemiológica de casos confirmados na região, realização de estudos populacionais baseados em inquéritos sorológicos e estudos bacteriológicos e sorológicos em animais, quando estes são necessários para esclarecer elos na transmissão da infecção dos animais para o homem. As linhas de



Leptospirose experimental em primata não-humano (*Callithrix jacchus*) com *Leptospira interrogans*, sorovar copenhageni. Microscopia de varredura a laser confocal. Marcação dos antígenos de *Leptospira* com FITC (verde) e contra-coloração com azul de Evans (vermelho quando estimulado pelo laser azul). A: visão panorâmica mostrando localização intraluminal e aderência à borda em escova de túbulos contorcidos proximais no córtex renal; B: demonstração em detalhe da aderência de leptospiras às células epiteliais do túbulo renal; C: depósito de antígenos em áreas hemorrágicas no parênquima pulmonar; D: presença do antígeno em hemorragia intra-alveolar

pesquisa em bacteriologia utilizam as cepas obtidas nos estudos epidemiológicos ou através de cooperação técnica interinstitucional e concentram-se na identificação das mesmas por métodos convencionais e no estudo das características antigênicas e fatores de virulência. O Laboratório mantém uma coleção de cepas de *Leptospira* sp. isoladas no Brasil e cepas de referência doadas por centros colaboradores da OMS, que atualmente compreende um total de 300 culturas criopreservadas.

Ainda em decorrência das informações obtidas nos estudos epidemiológicos, criou-se uma linha de pesquisa mais recente no Laboratório, visando ao estabelecimento de modelos experimentais *in vivo* para estudo da patogênese da leptospirose, utilizando principalmente camundongos inbred *(C3H/HeJ)* e primatas não-humanos *(Callithrix jacchus)*.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Ampliar as linhas de pesquisa existentes, particularmente no que se refere ao estudo de outros patógenos bacterianos de importância médica, como *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*. Suscitar o interesse de recém-doutores, pós-doutorandos e/ou pesquisadores visitantes nestas áreas, visando à captação gradativa de recursos humanos, bem como incentivar e ampliar a cooperação com outros departamentos do IOC, unidades da Fiocruz e instituições nacionais e internacionais.

Laboratório de Enterobactérias

A expansão e a consolidação do Laboratório, ao longo dos últimos anos, são resultantes da ação do corpo técnico-científico e das relações de intercâmbio com distintos grupos de pesquisa de instituições nacionais e internacionais. Assim, norteados pelas metas prioritárias, que visam à efetivação de estudos básicos e aplicados em espécies bacterianas, isoladas de diferentes fontes e suas repercussões para o homem, objetiva-se, precipuamente, ampliar e aprofundar o conhecimento sobre diferentes patógenos, incluindo emergentes e/ou endêmicos em nosso meio. Tais ações objetivam contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico, além de ofertar ao Ministério da Saúde subsídios epidemiológicos que possibilitem adoção de medidas profiláticas e de controle de algumas doenças bacterianas.

Por outro lado, podemos citar alguns aspectos relevantes que serão pontuados nos próximos anos, principalmente no que se refere à informatização plena e contínua das atividades do Laboratório: melhoria de fotodocumentação dos resultados laboratoriais; introdução e implementação de novas metodologias de biologia molecular, visando elucidar aspectos epidemiológicos e de virulência/patogenicidade de microrganismos; formação de recursos humanos através de cursos de atualização; capacitação de profissionais nos diferentes níveis de pós-graduação e recepção de visitantes de pós-doc; sistematização da Coleção de Culturas Bacterioteca do Instituto Oswaldo Cruz, através da utilização de métodos aplicados por outros centros de excelência; implemento na produção e distribuição de kits de antissoros para diagnóstico de enteropatógenos, visando atender plenamente à demanda nacional. Para viabilizar a realização dessas prioridades e atender às necessidades de adequação de novas linhas de pesquisa, busca-se recursos extraorçamentários nos diversos programas de financiamento nacionais e internacionais.

Laboratório de Fisiologia Bacteriana

O Laboratório tem usado bactérias entomopatogênicas como princípios ativos de inseticidas biológicos tóxicos contra Diptera, Coleoptera, Lepidoptera e outras Ordens de importância médica e veterinária com aceitação comercial. Portanto, a pesquisa científica neste campo tenderá a crescer, face à elevação do consumo de seus produtos. Em nosso país, esse fato pode ser constatado através do aumento de publicações científicas e técnicas de seus pesquisadores, em periódicos nacionais e internacionais. Dentro desse contexto, destaca-se um gradativo aumento de experimentos em nível de campo, tanto na agricultura como na saúde pública. Neste último caso, estados como Rio Grande do Sul, São Paulo e Pernambuco realizam estudos, tecnicamente bem conduzidos, empregando também inseticidas a base de *Bacillus* no combate integrado dos vetores de filariose, dengue e o inseto incômodo *S. pertinax*, já que a família Simuliidae em outras regiões do Brasil é vetora de *Onchocerca volvulus*.

Os avanços no uso de cepas de *Bacillus* entomopatogênicos transformados, com o auxílio de técnicas de biologia molecular e celular, pelo intercâmbio interespecífico de genes de delta-endotoxinas de novas linhagens descobertas, certamente marcarão positivamente a próxima década. Somam-se a isto, os avanços na obtenção de produtos formulados de lenta liberação no meio aquoso dos criadouros. Entretanto, é importante ressaltar que atingir esses intentos dependerá da aquisição e formação de recursos humanos altamente especializados nessa área de trabalho.

Laboratório de Zoonoses Bacterianas

Objetiva implementar o processo de isolamento de cepas de *Campylobacter* de materiais de origem humana, animal e ambiental, visando caracterizar fenotipicamente as amostras, analisando a incidência e/ou prevalência das espécies e biotipos em nosso meio. Nesta fase, as atenções se concentrarão nas análises de meios de cultura e/ou métodos para preservação de bactérias do gênero *Campylobacter*, na tentativa de minimizar as dificuldades de manter sua viabilidade *in vitro*. Todos esses aspectos fornecerão subsídios atualizados do diagnóstico laboratorial, assim como aprofundarão as análises epidemiológicas e ecológicas sobre o gênero *Campylobacter*.

Um ponto fundamental nesta prospecção residirá na formação de recursos humanos em diferentes níveis, como tentativa de fixá-los, no futuro, como membros especializados em campilobacteriose/ *Campylobacter*, fato este que incentivará a realização de intercâmbios e projetos em colaboração no país e no exterior.

Manter a linha de pesquisa de listeriose, procurando aprofundar as observações no âmbito da biologia molecular, com o intuito de analisar a prevalência e/ou incidência de tipos em nosso meio. Suscitar o interesse de pós-graduandos e outros para esta área, visando à capacitação gradativa de recursos humanos. Dar continuidade ao intercâmbio científico com o *National Reference Centre for Listeria*, Instituto Pasteur, Paris.

Em termos de desenvolvimento de linhas de pesquisa, requer sobretudo a continuidade das principais atividades do Laboratório que asseguram a troca de informações e cooperação técnico-científica com diversas instituições. Face à situação atual dos conhecimentos em leptospirose e à emergência desta zoonose como problema de saúde pública e animal no Brasil, destacam-se: 1) a necessidade de ampliar os conhecimentos epidemiológicos principalmente em áreas rurais ou cidades do interior do país; 2) a importância de obter informações bacteriológicas que possam servir de base para o desenvolvimento de testes rápidos e sensíveis, tanto para o diagnóstico da leptospirose humana quanto da animal, particularmente em bovinos e suínos; 3) a urgência de obter informações que possam subsidiar estudos ligados a alternativas terapêuticas ou a medidas preventivas através de vacinação. Ressalta-se que o impacto da doença, nas grandes cidades do Brasil, reside nas altas taxas de letalidade que atingem 5-15% no Rio de Janeiro, São Paulo, Recife, Salvador, e na emergência de formas pulmonares graves, cujo óbito pode ocorrer nas primeiras 24-48 horas de internação, apesar de suspeita clínica precoce e de tratamento médico especializado.

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGIA
CHEFE: *Leila Carvalho Campos*

LABORATÓRIO DE ENTEROBACTÉRIAS
CHEFE: *Dália dos Prazeres Rodrigues*

Dália dos Prazeres Rodrigues	Pesquisador Titular
Eliane Moura Falavina dos Reis	Pesquisador Associado
Leila Carvalho Campos	Pesquisador Associado
Marise Dutra Asensi	Pesquisador Titular
Ronaldo Mendes Alves	Tecnologista

LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA BACTERIANA
CHEFE: *Leon Rabinovitch*

Clara de Fátima Gomes Cavados	Assistente de Pesquisa
Claudia Maroja Brazão e Silva	Biotecnologista/Inpal
Leon Rabinovitch	Pesquisador Titular
Regina Santos de Azevedo Alves	Biotecnologista/Inpal

LABORATÓRIO DE ZOONOSES BACTERIANAS
CHEFE: *Ernesto Hofer*

Ana Luzia Lauria Filgueiras	Pesquisador Associado
Ernesto Hofer	Pesquisador Titular
Fernando José Meira de Vasconcellos	Tecnologista
Joseli Maria da Rocha Nogueira	Tecnologista
Martha Maria Pereira	Pesquisador Titular

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

HISTÓRICO

O Departamento originou-se do Laboratório de Comportamento Animal, que foi criado em 1968, pelos pesquisadores Pedro Jurberg e Orlando Guerra Júnior, com base na etologia. Inicialmente localizado no andar térreo do Hospital Evandro Chagas, foi transferido para o atual Pavilhão Lauro Travassos em 1970.

A partir dessa mudança, os primeiros estagiários passaram para o quadro permanente e outros pesquisadores foram incorporados ao Laboratório. Alguns destes partiram para a pós-graduação e que, expandindo seu campo de conhecimentos, capacitou-os a orientar novos estagiários, inicialmente de graduação e, posteriormente, de pós-graduação e a obter recursos externos. Essas conquistas permitiram a transformação do Laboratório em Departamento. As linhas de pesquisas começaram a se diversificar e o nome Comportamento Animal já não abrangia as atividades do Departamento como um todo. Assim, o Laboratório de Comportamento Animal deu lugar ao Departamento de Biologia que adotou a política de incentivar jovens promissores com estágio, bolsas de estudos, além de contratações por tempo determinado, através de agências de fomento à pesquisa como Finep e Fipec, dentre outras.

A passagem do Instituto para o regime de Fundação voltada para a saúde pública e a experiência dos pesquisadores na abordagem etológica direcionaram as pesquisas para o estudo do comportamento de vetores de doenças parasitárias. As linhas mestras do Departamento ficaram concentradas no comportamento de planorbídeos e de triatomíneos. O prédio era antigo e as instalações precárias, mas a sua arquitetura semelhante a uma grande casa propiciava o desenvolvimento de pesquisas ao ar livre que complementavam as de laboratório.

A abordagem etológica exigia uma metodologia específica para o registro detalhado do comportamento animal com o mínimo de interferência do observador. As condições da época não permitiam a obtenção de tecnologias sofisticadas, porém a criatividade dos pesquisadores e estudantes levou à elaboração de equipamentos simples, de baixo custo, porém eficientes. Essas aparelhagens possibilitaram o levantamento completo do repertório comportamental de espécies importantes na epidemiologia da esquistossomose e da doença de Chagas e a publicação de dezenas de trabalhos, além de capítulos de livros e teses de pós-graduação.

Com base na sobrevivência dos caramujos sob condições adversas, começaram-se a testar produtos de origem vegetal que atuassem como moluscicidas. Várias plantas brasileiras foram analisadas e uma delas, *Euphorbia splendens*, mais conhecida como "coroa de Cristo", se sobressaiu, por se mostrar altamente eficiente no controle desses moluscos. Este estudo despertou o interesse de pesquisadores do Brasil e de outros países e a intenção da Organização Mundial de Saúde (OMS) de integrar a planta no catálogo WHOPES já resultou em três teses, vários trabalhos publicados e capítulos de livros; o processo de liofilização do extrato *in natura* está patenteado.

As técnicas utilizadas nos estudos comportamentais atraíram sempre o interesse de pesquisadores e estudantes. Com isso, as linhas, talvez amparadas pelo sentido amplo do nome do Departamento, foram se expandindo. Hoje, as pesquisas estão relacionadas com biologia geral, ecologia, parasitologia, epidemiologia, saúde ambiental, cronobiologia, sexologia humana e educação em ciência e em saúde.

Os estudos na área de ecologia se delinearam a partir de análises da distribuição e dinâmica populacional de moluscos em condições seminaturais que deram origem a vários trabalhos publicados e dissertações de mestrado. Os resultados mostraram a necessidade de se evoluir em direção a investigações em condições naturais. Começou, dessa forma, o enfoque em saúde ambiental para tratar as questões relativas às parasitoses estudadas. Consoante às tendências contemporâneas no tratamento dos problemas sócio-ambientais, passou-se a investir, cada vez mais, em abordagens diversificadas e em parcerias inter e intra-institucionais, gerando três teses de mestrado. Desde 1996, o trabalho tem evoluído não apenas em direção à consolidação de competências nas áreas de parasitologia, malacologia e

epidemiologia, mas também à ampliação e fortalecimento de parcerias, com ênfase no diálogo com as comunidades envolvidas e na busca da interdisciplinaridade.

Os estudos sobre a ecologia de moluscos hospedeiros e a transmissão de parasitoses de veiculação hídrica indicavam um ponto em comum: as condições das águas superficiais, inclusive a utilizada no abastecimento público, contribuiriam decisivamente para os problemas de saúde pública. As atenções voltaram-se para a avaliação da água, através de técnicas de biomonitoramento, assim como a validação de modelos que explicassem o funcionamento dos ecossistemas de rios, em colaboração com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Essas pesquisas, pioneiras no Brasil, levaram à publicação de trabalhos e tese de doutoramento, contribuindo, significativamente, para a compreensão da organização estrutural e funcional dos ecossistemas aquáticos brasileiros. Atualmente, os estudos se direcionam à avaliação da saúde de ecossistemas aquáticos, visando à criação de procedimentos integrados no monitoramento biológico.

Pesquisas recentes de campo em comunidades rurais da zona canavieira de Pernambuco mostram que a quimioterapia periódica não tem impacto significativo sobre a transmissão da esquistossomose, havendo necessidade de medidas complementares como saneamento ambiental, educação em saúde e controle de moluscos. Dentro dessa perspectiva, estão sendo realizados estudos junto a crianças de idade escolar combinando o tratamento dos portadores da infecção por *Schistosoma mansoni* e por geohelmintos.

Outra vertente dos estudos em saúde ambiental foi criada em 1994, através das pesquisas sobre fungos contaminantes produtores de micotoxinas em alimentos e gêneros agrícolas, metabólitos estes com propriedades tóxicas e carcinogênicas ao homem e animais. O projeto integra um programa de parceria com o Núcleo de Pesquisa Micológico e Micotoxicológico da UFRRJ e com o Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. O acervo de fungos filamentosos, obtidos na sua maioria como resultado deste trabalho, conta hoje com cerca de 300 linhagens preservadas sob o método de liofilização.

Os estudos sobre o comportamento de planorbídeos levaram também, em 1979, às primeiras pesquisas de cronobiologia, voltadas para os ritmos biológicos nas atividades locomotora e reprodutora dos moluscos. A partir daí, foram investigados os ritmos circadianos na liberação de cercárias de *S. mansoni*. Uma tese de doutorado inaugurou a linha de cronobiologia humana no Departamento, através do estudo de esquemas de trabalho incompatíveis com os hábitos diurnos da população humana – particularmente o trabalho noturno. Além desta tese, a linha de cronobiologia gerou três dissertações de mestrado e várias publicações.

Paralelamente aos estudos sobre vetores da esquistossomose, o Departamento, desde a sua criação, vem desenvolvendo pesquisas na área de entomologia médica. Até 1986, as pesquisas se referiam apenas aos triatomíneos vetores da doença de Chagas. A partir daquele ano, com a reintegração de Hugo de Souza Lopes aos quadros do Instituto, foi implantada a linha de estudos sobre moscas sinantrópicas, causadoras de miíases e transmissoras de patógenos. Hugo era um dos maiores especialistas mundiais sobre essas moscas e deixou um dinâmico grupo de pesquisadores e estudantes de pós-graduação, que continua desenvolvendo trabalhos nesse campo. As pesquisas já originaram cinco teses de doutorado, quatro de mestrado e algumas dezenas de trabalhos publicados. Quatro teses de doutorado estão em andamento.

Dentro de uma perspectiva etológica, o Departamento vem estudando a sexologia humana em suas dimensões biológicas, psicológicas e sociais. Os temas abordados incluem diferenças de gênero e educação sexual para grupos minoritários (portadores de síndrome de Down e deficientes auditivos, entre outros).

Os estudos relativos aos moluscos vetores também deram origem às pesquisas na área de educação em saúde. A investigação de um foco isolado da esquistossomose no Alto da Boa Vista, na cidade do Rio de Janeiro, chamou a atenção para o comportamento de risco dos moradores. A partir de então, elaborou-se um projeto de educação em saúde em escolas da rede pública. Desta etapa, resultou a edição de seis livros (*Ciranda da Saúde*), destinados ao público infanto-juvenil, sobre a prevenção de doenças. As pesquisas nessa área foram ampliadas, resultando na elaboração de outros projetos de intervenção na realidade educacional brasileira, levando ao desenvolvimento de estratégias pedagógicas e cursos de atualização de professores sobre saúde e ambiente. Novos materiais educativos foram produzidos, como coleções de livros (*Ciranda do Meio Ambiente* e *Ciranda da Vida*), sobre problemas ambientais e ensino de ciências e jogos educativos voltados para a prevenção do HIV/Aids (*Zig-Zaids*) e para o uso indevido de drogas (*Jogo da Onda*).

O impacto desses materiais na educação brasileira pode ser atestado por sua divulgação na mídia, pelas solicitações de vários pontos do país e utilização em programas governamentais de educação em saúde em diversos municípios brasileiros. Foram ad-

quiridos setenta mil exemplares da coleção *Cirandа do Meio Ambiente* por programas educativos, cem mil exemplares do jogo *Zig-Zaids* pelo CNDST/AIDS/MS e por outras instituições públicas e privadas e dez mil unidades do *Jogo da Onda* pela Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro. A Fiocruz detém direitos autorais dos materiais, o que têm gerado recursos para a Instituição por meio do recebimento de royalties. Ao jogo *Zig-Zaids* foi concedida patente na modalidade MU e registro de marca (INPI).

A repercussão desses trabalhos motivou o convite da OMS para elaboração de documentos técnicos e consultorias, resultando na criação, em 1993, de uma subárea temática denominada *Comunicação, Informação e Educação* do programa de Pesquisa Aplicada de Campo do *Tropical Diseases Research* da OMS.

Desde 1986, têm sido realizados cursos de formação de profissionais de ensino e saúde sobre meio ambiente e prevenção de doenças em diferentes regiões do país, através de parcerias com secretarias de educação e saúde e com apoio da Cia. Vale do Rio Doce. Tem-se colaborado no projeto institucional "Museu da Vida", no "Museu do Universo" (Planetário, RJ) e no "Museu de Tecnologia" da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Na área de saúde da mulher, vem sendo realizado um diagnóstico qualitativo da rede pública de atendimento, de forma a melhorar a qualidade dos serviços. No campo da Aids, está sendo feita também a avaliação de impacto de uma área de lazer dentro de uma unidade hospitalar. Para isso, foi criada uma Brinquedoteca no setor de doenças infecciosas e parasitárias do Instituto Fernandes Figueira (IFF), Fiocruz, que visa melhorar a qualidade de vida de crianças soropositivas e seus parentes.

As pesquisas relacionadas à educação em saúde têm gerado dissertações e teses vinculadas à pós-graduação da Escola Nacional de Saúde Publica (ENSP), PUC, UFRJ e Universidade Estadual do Rio de Janeiro, publicações científicas, captação de recursos e projetos de fixação de mestres e doutores (CNPq e Faperj), favorecendo a formação de recursos humanos em pesquisa. Salientam-se as colaborações técnicas com unidades da Fiocruz (ENSP, IFF, Hospital Evandro Chagas, Casa de Oswaldo Cruz e Centro de Pesquisas René Rachou), a coordenação da área de educação do programa integrado de Aids da Fiocruz e a elaboração do site do programa a ser divulgado pela Unaids para as principais instituições internacionais que lidam com a questão da Aids.

Atualmente, o Departamento é constituído de quatro laboratórios e um núcleo.

Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental

Seu credenciamento ocorreu em 1990. Originou-se do Laboratório de Comportamento Animal que, desde 1981, investigava o comportamento e a fisiologia de moluscos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. O enfoque em saúde ambiental se delineou pela implementação gradativa de quatro linhas de pesquisa: 1) ecologia e epidemiologia da esquistossomose e outras doenças parasitárias; 2) estudo de modelos e avaliação da integridade ecológica dos ecossistemas de rios; 3) estudos sobre sexualidade humana; 4) estudo de fungos produtores de micotoxinas. Este perfil aprofundou-se, em 1996, com o estabelecimento e fortalecimento de parcerias nas áreas das ciências biológicas e das ciências sociais e consolidou-se com a reunião da equipe, em 1997, em torno de um projeto interdisciplinar e multiinstitucional de avaliação e promoção da saúde ambiental. Com base em reflexões sobre a abrangência e a importância social dos trabalhos que passou a realizar, em 1998

Inventário da biodiversidade de invertebrados dulceaqüícolas do estado do Rio de Janeiro para biomonitoramento da qualidade da água de rios. Estudo desenvolvido em conjunto pelo Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental do Departamento de Biologia do Instituto Oswaldo Cruz e o Laboratório de Entomologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

adotou-se o nome atual do Laboratório, por traduzir melhor a sua realidade.

Laboratório de Biologia e Controle de Insetos Vetores

Foi credenciado em 1990, tendo como chefe Hugo de Souza Lopes. Foi recredenciado em 1998. Desde o início de sua criação, desenvolve pesquisas na área de entomologia médica, com ênfase em triatomíneos vetores de doença de Chagas e em moscas sinantrópicas, causadoras de miíases e veiculadoras de agentes patogênicos. As linhas de pesquisa se referem à biologia, controle biológico, relação parasito-hospedeiro, sistemática e utilização de dípteros em medicina legal. Um outro enfoque do Laboratório é atuar, ativamente, na formação de jovens em todos os níveis de graduação e pós-graduação. Atualmente, o seu quadro é formado por cinco pesquisadores, uma pesquisadora visitante, três estudantes de doutorado, um de pós-graduação *lato sensu*, quatro de iniciação científica e vários alunos de vocação científica. Mantém uma média anual de oito trabalhos publicados e várias teses de mestrado e doutorado já foram defendidas nesses dez anos de atividades.

Laboratório de Ecologia e Controle de Moluscos Vetores

Foi credenciado em 1990, tendo concentrado suas pesquisas e formado estudantes principalmente em ecologia, epidemiologia e controle da esquistossomose. Com 21 trabalhos publicados, além de sete teses de mestrado e uma de doutorado defendidas, o Laboratório já recebeu financiamento do TDR (OMS), CNPq e Papes e mantém estreita parceria técnico-científica com o Instituto Aggeu Magalhães e a Fundação Nacional de Saúde (Recife).

Inicialmente, o Laboratório se concentrou nos aspectos comportamentais dos moluscos vetores em resposta a condições adversas do ambiente, inclusive moluscicidas, bem como nos aspectos cronobiológicos da emissão de cercárias de *S. mansoni* nesses moluscos. Posteriormente, os trabalhos se concentraram nos aspectos epidemiológicos aplicados ao controle da transmissão da doença. Em 1995, os estudos de campo feitos nessa linha foram destaque em relatório publicado pelo TDR, ao mostrar que o controle focal de moluscos vetores é capaz de reduzir significativamente a reinfecção se combinada com a quimioterapia. Pesquisas recentes de campo em comunidades rurais de uma área hiperendêmica de esquistossomose em Pernambuco mostraram que a quimioterapia periódica não tem impacto significativo sobre a transmissão da doença em localidades com altos índices de reinfecção. Por isso, pesquisas futuras deste Laboratório estarão voltadas para a identificação das localidades problemáticas, a partir de inquéritos parasitológicos em escolares, bem como a implementação de medidas de controle ambiental em pequena escala conjugadas à quimioterapia. Ênfase particular será dada ao controle da esquistossomose combinado ao das geo-helmintíases nas crianças de idade escolar, sem perder de vista que o controle efetivo dessas endemias depende da melhoria global na qualidade de vida das comunidades atingidas.

Aplicação de questionário sócio-demográfico para identificação de fatores de risco associados à esquistossomose em Covas, comunidade rural da zona canavieira de Pernambuco. Pesquisa realizada pelo Laboratório de Ecologia e Controle de Moluscos Vetores do Departamento de Biologia com a colaboração do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-Fiocruz e da Fundação Nacional de Saúde

Laboratório de Educação em Ambiente em Saúde

Foi credenciado em 1990, sob a coordenação de Virgínia Schall, legitimando um projeto que vinha sendo desenvolvido desde 1983. Foi a partir desse ano que foram iniciadas as primeiras pesquisas no campo da educação em saúde, decorrentes de estudos sobre os moluscos transmissores da esquistossomose. O

credenciamento consolidou uma linha de investigação voltada para a promoção da saúde e para educação científica, que resultou em diversas publicações. Atuou na produção de materiais educativos (livros e jogos), na proposição e avaliação de programas governamentais na área de ensino e saúde e em cursos de atualização para educadores sobre saúde e ambiente.

Mantendo a tradição experimental iniciada na década de 80, o Laboratório desenvolve ainda estudos experimentais de avaliação de uma nova planta moluscicida, voltada para o controle dos caramujos vetores da esquistossomose. Mais recentemente, incorporou uma linha de pesquisa em cronobiologia humana, decorrente de estudos sobre ritmos circadianos na liberação de cercárias de *S. mansoni*.

Atualmente, o Laboratório é constituído por cinco pesquisadores e dois tecnologistas, formando uma equipe de cinco doutores e um mestre, responsáveis pela coordenação de projetos de pesquisas relacionados às principais linhas de investigação descritas a seguir: 1) desenvolvimento e avaliação de estratégias para a prevenção de doenças, promoção da saúde e valorização da vida; 2) estratégias de difusão científica e popularização da ciência; 3) cronobiologia humana aplicada à saúde do trabalhador.

Materiais desenvolvidos no Laboratório de Educação em Ambiente e Saúde (Departamento de Biologia) - *Ciranda da Saúde* (1985, Antares): seis livros sobre a prevenção de doenças; *Ciranda do Meio Ambiente* (1989, Memórias Futuras): dez livros sobre meio ambiente; *Ciranda da Vida* (1995, Memórias Futuras): relativa ao ensino de ciências; *Carteira da Saúde* (1996) e *Jogo da Onda* (1998, Consultor) sobre a prevenção do uso indevido de drogas; *Almanaque Colorindo a Fiocruz* (1995) sobre a história da Fiocruz

Núcleo de Biologia e Controle de Endo e Ectoparasitos de Interesse Médico-veterinário

Foi formado em 1997 e desenvolve pesquisas laboratoriais e de campo em parasitologia, epidemiologia e controle experimental de parasitoses e vetores, pela ação de drogas, e em taxonomia de endo e ectoparasitos. Atualmente, três linhas mestras de pesquisa vêm sendo desenvolvidas: 1) biologia e controle da fasciolose, cujos estudos são voltados para testes de novos moluscicidas naturais visando ao controle de moluscos hospedeiros intermediários; 2) bioquímica e histopatologia da fasciolose bovina e levantamento da fasciolose humana no Rio de Janeiro; 3) estudo ultra-estrutural de Filarioidea e controle da pediculose através de programa educacional e implantação de folheto informativo, assim como controle biológico de ixodídeos.

Outra missão do núcleo é a formação de recursos humanos em níveis de graduação e pós-graduação. O seu quadro atual apresenta pesquisadores com

Projeto: Controle da fasciolose. Coleta de material fecal de hospedeiros definitivos para exame coprológico visando ao estudo da prevalência da doença em fazendas do Rio de Janeiro e de São Paulo

mestrado e doutorado, dois estudantes de mestrado, dois de pós-graduação *lato sensu* e quatro de iniciação científica.

LINHAS DE PESQUISAS DO DEPARTAMENTO

Ecologia, epidemiologia e controle da esquistossomose e outras helmintíases – Esta linha envolve estudos de laboratório e de campo sobre os seguintes aspectos: 1) epidemiologia ambiental e controle da transmissão da esquistossomose em áreas de baixa prevalência; 2) controle da infecção por *S. mansoni* e geo-helmintos em áreas hiperendêmicas da região Nordeste; 3) aspectos imunoepidemiológicos e comportamentais relacionados à esquistossomose; 4) avaliação de produtos naturais e participação da comunidade para controle da esquistossomose em áreas endêmicas de Minas Gerais; 5) epidemiologia e controle dos hospedeiros intermediários da *Fasciola hepatica*.

Biologia, comportamento e relação parasito-hospedeiro invertebrado, dos vetores da doença de Chagas – Os estudos se referem à biologia de triatomíneos nas seguintes condições: 1) quando alimentados *in vitro*, em sangue de mamíferos, liofilizado e reidratado; 2) à bionomia de triatomíneos alimentados em sangue *in vitro*, mantidos em diferentes temperaturas; 3) a efeitos da infecção de diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* sobre o desenvolvimento e reprodução das principais espécies de insetos vetores.

Bionomia, sistemática e controle de dípteros caliptrados (Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae) – Como objetivos gerais, os estudos visam compreender os mecanismos ecológicos e biológicos dos dípteros caliptrados vetores de agentes patogênicos e produtores de miíases e abrangem os seguintes tópicos: 1) estudar a sinantropia e taxonomia desses dípteros; 2) avaliar os diversos aspectos bioecológicos dos substratos de criação; 3) investigar o comportamento reprodutivo, alimentar e de sobrevivência; 4) determinar o desenvolvimento pós-embrionário; 5) esclarecer os diversos mecanismos de transmissão mecânica de agentes patogênicos; 6) verificar o índice de casos de miíases em animais do Jardim Zoológico do município do Rio de Janeiro; 7) estudar a flutuação populacional de muscóides na Floresta da Tijuca (parâmetro que pode ser utilizado para avaliação de impacto ambiental); 8) estudar o controle biológico, utilizando *Bacillus thuringiensis* e suas variedades. Atualmente os pesquisadores estão testando bacilos descobertos em solos basileiros, pela equipe de Leon Rabinovich; 9) estudar os dípteros muscóides de interesse médico-legal, em diversas localidades no município do Rio de Janeiro e determinar o período de desenvolvimento das fases imaturas desses insetos necrófagos. Essas informações, associadas ao conhecimento morfológico (identificação) dos insetos, são fundamentais para a possível datação tanatológica.

Desenvolvimento e avaliação de estratégias para a prevenção de doenças, promoção da saúde e valorização da vida – Trata-se de um amplo programa de pesquisa sobre o desenvolvimento e a avaliação de programas e novos recursos educativos voltados para a prevenção de doenças e promoção da saúde, que objetivam incrementar e integrar a educação formal e não-formal (serviços de saúde, espaços museológicos, etc.). Centra-se na perspectiva de que as políticas de controle das doenças e a melhoria da qualidade de vida devem ser orientadas por investigações das representações e das práticas da população, discussão dos fundamentos teóricos dos programas preventivos, adequação das estratégias educativas às especificidades sócio-culturais e econômicas dos diversos grupos sociais e análise de suas repercussões. Tendo em vista o papel da educação na mudança de comportamentos da população, esta linha de pesquisa objetiva contribuir para a formulação e o aperfeiçoamento de políticas públicas de educação em ambiente e saúde.

Estratégias de difusão científica e popularização da ciência – Esta linha de investigação combina pesquisas sobre os processos de popularização científica promovidos por instituições acadêmicas, com ênfase nos museus de ciência e o estudo da ficção especulativa como ferramenta de educação informal em ciência. São feitas consultorias a projetos nacionais de criação de espaços museais, bem como parcerias em projetos internacionais. Tais trabalhos visam à contribuição para a divulgação e a educação científica.

Saúde de ecossistemas – Esta linha abrange os seguintes tópicos: 1) estudo de modelos teóricos sobre aspectos ecológicos do funcionamento dos ecossistemas de rios brasileiros; 2) estudos sobre o impacto de alterações ambientais sobre as comunidades de macroinvertebrados; 3) desenvolvimento de produtos multimídia para auxílio na identificação taxonômica de invertebrados aquáticos, visando ao monitoramento da qualidade da água em rios e reservatórios; 4) definição das ecorregiões aquáticas para o estado do Rio de Janeiro. Tais estudos procuram contribuir para o desenvolvimento de meto-

dologias utilizadas em programas de monitoramento biológico.

Biologia de fungos produtores de micotoxinas – O estudo da biologia de fungos produtores de micotoxinas tem por objetivo cooperar com o Programa Nacional de Micotoxinas-Brasília/DF. A avaliação da qualidade micológica e micotoxicológica de alimentos, através do isolamento, identificação e conservação de fungos produtores de aflatoxinas e ochratoxinas, com posterior investigação da capacidade micotoxígena dessas linhagens, tem sido alvo principal dos projetos desenvolvidos. A perspectiva de estudos moleculares em complementação à taxonomia clássica é o rumo pretendido, na tentativa de contribuir para o aperfeiçoamento de técnicas mais sensíveis e específicas no diagnóstico e detecção desses fungos toxígenos.

Biologia e controle de ectoparasitos de interesse médico e veterinário – Esta linha tem como objetivo estudar a biologia, o controle experimental através da ação de drogas químicas e biológicas, a sistemática e a morfologia de endo e ectoparasitos de humanos e animais. Estudos de controle e epidemiologia da fasciolose humana e animal e pediculose em populações humanas, assim como o controle de carrapatos, estão em andamento de forma integrada com a atuação da comunidade e vigilância sanitária na prevenção de tais problemas de saúde específicos.

Cronobiologia humana aplicada à saúde do trabalhador – A pesquisa aborda o trabalho em turnos em indústrias e hospitais, em resposta à demanda pela análise de esquemas de trabalho incompatíveis com nossos hábitos diurnos. O estudo fundamenta-se em conceitos da cronobiologia, que traz para o campo da saúde do trabalhador a noção de *ambiente temporal*, ressaltando a diversidade de problemas orgânicos e sócio-familiares decorrentes do desrespeito ao relógio biológico e à organização social em torno das 24 horas. Ênfase especial é dada ao estudo do sono, tendo em vista os efeitos da privação crônica do sono ao bem-estar físico e mental. A pesquisa inclui o levantamento das condições de saúde dos profissionais, a avaliação do estado de alerta, além da análise circunstanciada do uso do tempo aliada a uma metodologia qualitativa para apreender as vivências e práticas dos/as trabalhadores/as em relação à organização do cotidiano e à experiência de trabalhar à noite ou em turnos de 24 horas. O uso de diferentes enfoques para abordar o/a trabalhador/a no campo visa aprofundar o conhecimento nesta área, de forma a contribuir para a elaboração de propostas de intervenção voltadas para a melhoria das condições de trabalho deste segmento da população.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

As perspectivas do Departamento, como tem feito sempre, serão promover o desenvolvimento de pesquisas nas áreas de malacologia e entomologia de vetores, epidemiologia e controle de parasitoses intestinais, educação ambiental e saúde, biologia e controle de artrópodes e de helmintos de interesse médico e veterinário. Continuará também a atuar na formação de jovens, desde a iniciação científica até as diversas modalidades de pós-graduação.

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CHEFE: *Marli Maria Lima*

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E PROMOÇÃO DA SAÚDE AMBIENTAL
CHEFE: *Pedro Jurberg*

Cesar Luis Pinto Coelho da Silva	Assistente de Pesquisa
Darcílio Fernandes Baptista	Pesquisador Adjunto
Denise Assunção Borges	Tecnologista
Magali Gonçalves Muniz Barreto	Assistente de Pesquisa
Mario Jorge de Araujo Gatti	Pesquisador Titular
Marisa da Silveira Soares	Pesquisador Associado
Pedro Jurberg	Pesquisador Titular
Rodolfo Armando da Cunha	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E CONTROLE DE INSETOS VETORES
CHEFE: *Marli Maria Lima*

José Mário d'Almeida	Pesquisador Visitante/UFRJ
José Roberto Mac Cord Gonçalves	Pesquisador Associado
Margareth Maria de Carvalho Queiroz	Assistente de Pesquisa
Marina Vianna Braga	Assistente de Pesquisa
Marli Maria Lima	Pesquisador Titular
Vanderléia Cristina de Oliveira	Pesquisador Visitante/CNPq

LABORATÓRIO DE ECOLOGIA E CONTROLE DE MOLUSCOS VETORES
CHEFE: *Otávio Sarmento Pieri*

Lilian Christina N. Holsbach Beck	Assistente de Pesquisa
Otávio Sarmento Pieri	Pesquisador Titular
Tereza Cristina Favre	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL E EM SAÚDE
CHEFE: *Simone Monteiro*

Daniele Grynszpan	Pesquisador Adjunto
Isabela Cabral Félix de Sousa	Pesquisador Visitante/CNPq
Lucia de La Rocque Rodriguez	Tecnologista
Lúcia Rotenberg	Pesquisador Associado
Simone Monteiro	Pesquisador Visitante/Faperj
Tirza Barbosa Dias	Tecnologista
Virginia T. Schall de Mattos Pinto	Pesquisador Titular

NÚCLEO DE ESTUDOS SOBRE A BIOLOGIA E CONTROLE DE ENDO E ECTOPARASITAS DE INTERESSE MÉDICO E VETERINARIO
COORDENADOR: *Mauricio Carvalho de Vasconcellos*

Edwin Alberto Pile Maure	Pesquisador Visitante/CNPq
José Augusto Albuquerque dos Santos	Assistente de Pesquisa
Júlio Vianna Barbosa	Pesquisador Associado
Mauricio Carvalho de Vasconcellos	Assistente de Pesquisa
Zeneida Teixeira Pinto	Assistente de Pesquisa

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

HISTÓRICO

O Departamento foi criado em 1 de abril de 1980 por sugestão do então vice-presidente de pesquisa e diretor do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), José Rodrigues Coura. Carlos Médicis Morel estruturou o Departamento em laboratórios especialmente voltados ao estudo de organismos patogênicos e vetores. Atualmente, da mesma forma que os demais departamentos do IOC, a estrutura departamental é constituída por um chefe de departamento, eleito a cada dois anos, que é assessorado pelo Conselho Departamental formado por chefes de laboratório e três representantes das categorias pesquisadores, técnicos administrativos e estudantes de pós-graduação.

Em 1990, o Departamento estruturou-se em nove laboratórios, formalmente credenciados por uma comissão de avaliação externa e referendados pelo Conselho Deliberativo do IOC. Os laboratórios possuem linhas de pesquisa próprias.

Atualmente, o Departamento possui 21 pesquisadores do quadro de servidores, dezenove pesquisadores visitantes, quatro tecnologistas, catorze técnicos e 27 estudantes de mestrado e doutorado, além de uma população flutuante de estudantes de iniciação científica, estagiários, técnicos e bolsistas de aperfeiçoamento e pós-doutorado. Dado o impacto dos trabalhos produzidos pelo Departamento, vários pesquisadores são freqüentemente convidados para participar como assessores de agências financiadoras de pesquisa em ciência e tecnologia. Em 1998, Carlos Morel foi convidado e nomeado diretor do Programa Especial e Treinamento em Doenças Tropicais do PNUD/Banco Mundial/OMS (TDR). Além disso, alguns pesquisadores participaram de comitês internacionais: Eloi de Souza Garcia presidiu o *Joint Coordinating Boarding*, no período de 1995-1997, e Morel o *Technical Advisory Committee*, entre 1997 e 1999, ambos órgãos da estrutura do TDR. Morel participou também na área administrativa institucional como diretor do IOC, de 1985 a 1989, vice-presidente de pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz, de 1985 a 1990, e como presidente, de 1993 a 1997. Em 1989, Eloi Garcia assumiu o cargo de editor das *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. No início de 1997, Carlos Morel transferiu o cargo de presidente para o recém-eleito e nomeado Eloi Garcia que exerce este cargo até a presente data. Outro pesquisador do Departamento, Hooman Momen, teve também função administrativa como vice-diretor do IOC, no período de 1993 a 1997, e é, atualmente, o editor das *Memórias*.

Vários pesquisadores do Departamento receberam prêmios e distinções. Morel recebeu a comenda Carlos Chagas, em 1985, por sua atuação como diretor do IOC; o título de comendador da Ordem do Rio Branco, em 1995; o Prêmio Cidade do Rio de Janeiro de Ciência e Tecnologia, em 1995 (Prefeitura do Rio de Janeiro), bem como a Ordem Nacional do Mérito Científico, Classe Gran Cruz, por decreto de 20 de novembro de 1996, do presidente da República. Marco Aurélio Krieger recebeu o Prêmio Nacional para Biologia Molecular, concedido pela *Marc Chagall National Foundation*, em 1991, pelo seu trabalho sobre diagnóstico em doença de Chagas com antígenos recombinantes. O desenvolvimento de um kit diagnóstico com estes antígenos resultou no Prêmio Governador do Estado – Invento Brasileiro, oferecido pelo governo de São Paulo, em 1993, a Samuel Goldenberg e Marco A. Krieger; em 1998, publicou-se a Patente Americana, concedida à Fiocruz por este kit. Patrícia Azambuja recebeu o Prêmio Sendas com o trabalho "Bioquímica e comportamento de vetores transmissores de doenças infecto-parasitárias", em 1994. Octavio Fernandes recebeu o prêmio da Academia Nacional de Medicina pelo trabalho de desenvolvimento de sondas moleculares e abordagens de amplificação *in vitro* de DNA para identificação e tipagem de espécies de *Leishmania*, em 1997. Eloi Garcia recebeu, em 1998, do Governo de Minas Gerais, a Medalha dos Inconfidentes pelo reconhecimento de seus trabalhos científicos.

Até julho de 1999, o Departamento teve um total de 399 trabalhos publicados, 98% deles em revistas indexadas, além de cinco livros e 47 capítulos de livros. Um total de 95 teses de mestrado e/ou doutorado foram defendidas até esse período. Foram organizados 32 cursos, simpósios e/ou congressos, nacionais ou internacionais, por pesquisadores do De-

partamento, além das disciplinas oferecidas nos cursos de pós-graduação do IOC.

Cabe destacar a implantação do primeiro site da Fiocruz na internet, em 1993, via um projeto de infra-estrutura do Departamento. No âmbito do Projeto Genoma de *Trypanosoma cruzi*, o Departamento é o responsável pela criação e manutenção do banco de dados das seqüências de DNA desse parasita, que estão sendo geradas pelos diversos laboratórios envolvidos no projeto. Esse banco foi adaptado pela equipe do pesquisador Wim Degrave, a partir do acedB (*C. elegans* database) estando disponível na homepage do Departamento como um dos sites oficiais que contém todas as informações sobre o Projeto Genoma. Aproximadamente 1.000 seqüências de cDNA de *T. cruzi* foram depositadas no GenBank (dabEST). Apoiado pela OMS/TDR, Cabio (Centro Argentino Brasileiro de Biotecnologia), Cyted e CNPq, o Projeto Genoma de *T. cruzi* foi oficialmente lançado em 1994, em reunião ocorrida na Fiocruz, contando atualmente com a participação de vários laboratórios situados no Brasil, Argentina, Uruguai, Venezuela, México, Estados Unidos, Suécia, Inglaterra e França. Degrave vem secretariando o projeto desde então.

O Departamento desenvolve trabalhos em colaboração com diversas instituições, no país e no exterior, tanto informalmente quanto através de convênios institucionais. Dentre as mais significativas no exterior, podemos destacar: UCLA, Universidade do Arizona, NIH, Instituto Pasteur de Paris, Instituto Max Planck, Universidade de Bochum, Universidade de Yale e Universidade de Swansea.

A captação de recursos extraorçamentários tem sido realizada através de projetos financiados pela CE, TDR, OMS, Wellcome, NIH, DAAD, Inserm, Conselho Britânico, Opas, IAEA, Fundação Volkswagen, Escola Brasil Argentina de Biotecnologia, além das agências de fomento nacionais.

As descobertas de impacto e de destaque do Departamento, desde sua criação, foram as seguintes:

1980 – Introdução da técnica de análise de esquizodemas, ou seja, uma nova abordagem para caracterização de tripanossomatídeos. O resultado desse trabalho culminou com a realização do curso internacional *Genes and Antigens of Parasites*, em 1983, sob o patrocínio da TDR/OMS. Do curso foi editado um manual de laboratório que recebeu uma nota contendo uma crítica favorável na revista *Nature*.

1983 – 1) Demonstrada a presença de um fator hemolítico responsável pelo início da digestão no estômago de barbeiros, vetor da doença de Chagas. 2) Demonstrada a presença de fatores tripanolíticos e aglutinantes em triatomíneos, capazes de selecionar cepas de *T. cruzi* no vetor.

1984 – O Departamento foi credenciado como centro de referência da OMS para caracterização de *Leishmania*.

1985 – Foi desenvolvido um meio, quimicamente definido, capaz de induzir, artificialmente, a metaciclogênese do *T. cruzi*.

1986 – O Departamento foi credenciado como centro de referência da OMS para a caracterização de *T. cruzi*.

1987 – 1) Descrita, pela primeira vez, a obtenção e caracterização de anticorpos monoclonais, cepa (Colombiana), espécies-específicos de *T. cruzi*. 2) Foi demonstrado um ensaio para identificação *in situ* dos flagelados no intestino do inseto vetor.

1988 – A descoberta dos mini-repeats no DNA mitocondrial de *T. cruzi*, foi de grande importância para a melhoria do diagnóstico molecular da doença de Chagas.

1989 – 1) Os genes repetitivos do DNA mitocondrial foram clonados, desenvolvendo-se sondas de DNA para a detecção e caracterização de *T. cruzi* através de PCR. 2) Foi demonstrado que a droga azadiractina inibe a produção de hormônios de crescimento em *Rhodinius prolixus* e a sua interferência na interação entre *T. cruzi* e este inseto vetor.

1990 – Genes repetitivos nucleares do *T. cruzi* foram clonados, bem como alguns antígenos recombinantes desse parasita, obtidos por engenharia genética, foram desenvolvidos e referendados pela OMS para diagnóstico sorológico da doença de Chagas. Esse trabalho recebeu um prêmio da Fundação Marc Chagall.

1992 – 1) O Departamento foi pioneiro no país na implantação de um banco de dados em computador, contendo seqüência de ácidos nucleicos e proteínas. 2) Evidência molecular da importação da *Leishmania* do Velho Mundo para as Américas.

1993 – 1) Caracterização da resposta imune nas lesões humanas de *L. brasiliensis* por RT-PCR, demonstrando-se que as lesões mucosas produzem quatro vezes mais IL-4 em relação à lesão cutânea. 2) Demonstração que componentes dos eritrócitos são importantes para a produção de hormônios por insetos hematófagos. 3) Desenvolvimento de um protocolo de isolamento de DNA de *T. cruzi* no sangue para uso diagnóstico por meio de PCR.

1994 - 1) Aplicação de PCR no diagnóstico da doença de Chagas. 2) Descoberta de um novo

biótipo de *V. cholerae* epidêmico e de um alelo diagnóstico para cepas de *Bacillus sphaericus* entomopatogênicos.

1995 - 1) Demonstração que peptídeos derivados da cadeia alfa de globina, são importantes na modulação do desenvolvimento e indução da metaciclogênese do *T. cruzi* no inseto vetor, *R. prolixus*. 2) Caracterização fenotípica de vírus amarílico vacinal, regenerado a partir de DNA complementar clonado. 3) Determinação da seqüência nucleotídica completa do genoma de duas cepas de vírus amarílico vacinal. 4) Utilização de um novo método de PCR para avaliação de cura parasitológica em pacientes chagásicos submetidos à quimioterapia.

1996 - Primeiro isolamento de enzima de restrição em bacilo entomopatogênico.

1997- 1) Desenvolvimento do PCR como rotina no diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana humana. 2) Influência de fatores nutricionais e ecdisona na resposta imune de insetos hematófagos. 3) Demonstradas as propriedades biológicas e a caracterização bioquímica-estrutural de uma toxina (serino proteinase) de veneno de serpente. Foi a primeira seqüência protéica determinada por método químico no Departamento depositada em banco de dados.

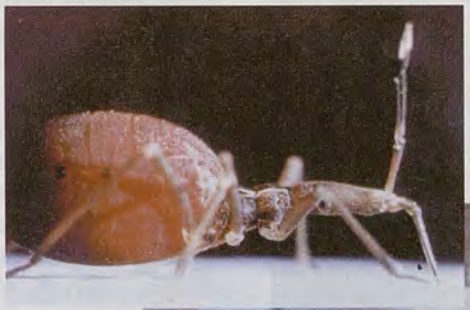
1998 – 1) Demonstração da importância do hormônio cerebral na organização ultra-estrutural do intestino de barbeiros. 2) Identificação de duas linhagens de *T. cruzi*, uma doméstica e outra silvestre, caracterizadas por meio de seqüenciamento dos genes de miniexon e RNA ribossomal. 3) Estabelecimento de nova tecnologia para a produção de vírus amarílico vacinal a partir de cDNA em cultura de tecidos.

1999 – 1) Em 12 de setembro de 1999, a *Folha de São Paulo* inclui Eloi S. Garcia, Samuel Goldenberg, Carlos M. Morel e Hooman Momen na lista de pesquisadores brasileiros com maior impacto na comunidade científica internacional. 2) Demonstração da influência do hormônio cerebral de barbeiros na interação com o *T. cruzi*. 3) Descrita a caracterização imunológica e pós-traducional de vários antígenos da superfície de merozoítas de três espécies de *Plasmodium*.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Bioquímica, Fisiologia e Imunologia de Insetos

Estuda os aspectos bioquímicos e endocrinológicos relacionados ao desenvolvimento do sistema de defesa humoral e celular de insetos e a interação molecular parasita-vetor. Pesquisas em andamento: 1) interação molecular tripanossomatídeos/vetor; 2) atividade biológica de produtos naturais de plantas sobre insetos; 3) sistema de defesa celular e humoral de *R. prolixus*; 4) hormônios e anti-hormônios de insetos; 5) controle neuro-endócrino do sistema imunológico de insetos.



Rhodnius prolixus

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas

Faz pesquisa básica na área de tripanossomíase americana. Pesquisas em andamento: 1) estudo epidemiológico da doença de Chagas através de PCR e de técnicas de hibridização molecular; 2) diagnóstico da doença de Chagas por PCR; 3) caracterização molecular de tripanossomatídeos; 4) utilização de sistema automatizado de PCR quantitativo para controle pós-terapêutico da doença de Chagas.

Múmia chilena proveniente do Museu Arqueológico de San Pedro de Atacama, datada de 2.000 anos a.C. Estudos de paleoparasitologia molecular da doença de Chagas revelaram a presença do DNA de *Trypanosoma cruzi* em tecidos mumificados.

Laboratório de Biologia Molecular de Flavivírus

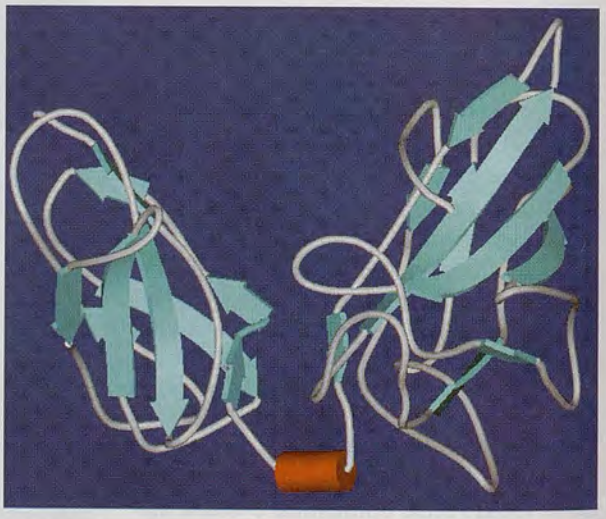
Tem como linha principal de pesquisa o desenvolvimento do vírus 17D como vetor de expressão e novas vacinas virais vivas e atenuadas e tem como meta o uso da biologia molecular para o estudo de diversos sistemas biológicos com implicações para o desenvolvimento da biotecnologia. Pesquisas em andamento: 1) uso de vírus amarílico vacinal como vetor de expressão; 2) biologia molecular de flavivírus; 3) biologia molecular de poxvírus.

Laboratório de Biologia Molecular de Tripanossomatídeos e Flebotomíneos

O objetivo é o estudo de vários aspectos da biologia molecular de tripanossomatídeos e flebotomíneos. Pesquisas em andamento: 1) caracterização molecular de cisteína proteinase de *Leishmania*; 2) estudos moleculares da interação flebotomíneo-*Leishmania*; 3) genética molecular e evolução de genes do comportamento em flebotomíneos.

Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos

Tem como meta a purificação e determinação estrutural (primária, secundária e terciária) de enzimas proteolíticas e antígenos protéicos de agentes infecciosos e parasitários, utilizando técnicas de química de proteína, biologia molecular, estudos gráfico-computacionais e cristalográficos com a finalidade de identificar alvos terapêuticos potenciais e antígenos para o desenvolvimento de testes diagnósticos. Pesquisas em andamento: 1) bioquímica estrutural e funcional de proteínas de agentes infecciosos e parasitários; 2) síntese de peptídeos biologicamente ativos e inibidores enzimáticos; 3) imunologia molecular de antígenos de agentes infecciosos e parasitários; 4) purificação, seqüenciamento, cristalografia e modelagem molecular de antígenos/proteínas parasitários.



Modelo de estrutura tridimensional para proteína de classe V de *Neisseria meningiditis*

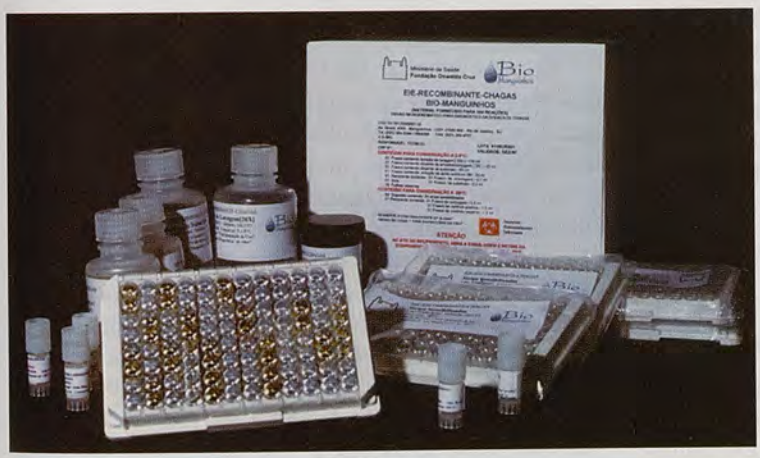
Laboratório de Imunopatologia

O principal objetivo é o estudo de mecanismos imunorregulatórios envolvidos na gênese de lesões causadas por agentes infecciosos, em particular a *L. braziliensis* e o *T. cruzi*. Pesquisas em andamento: 1) caracterização fenotípica e funcional da resposta imune *in situ* de lesões cutâneas e mucosas humanas de *L. braziliensis*; 2) padrão de expressão de citocinas nas lesões humanas de *L. braziliensis*; 3) estudo dos reservatórios silvestres de *Leishmania*; 4) desenvolvimento de métodos diagnósticos para

leishmaniose tegumentar americana; 5) resposta imune celular e humoral da cardite experimental por *T. cruzi*; 6) avaliação da resposta imune celular em pacientes chagásicos, coinfectados ou não com HIV, frente a antígenos definidos.

Laboratório de Regulação da Expressão Gênica

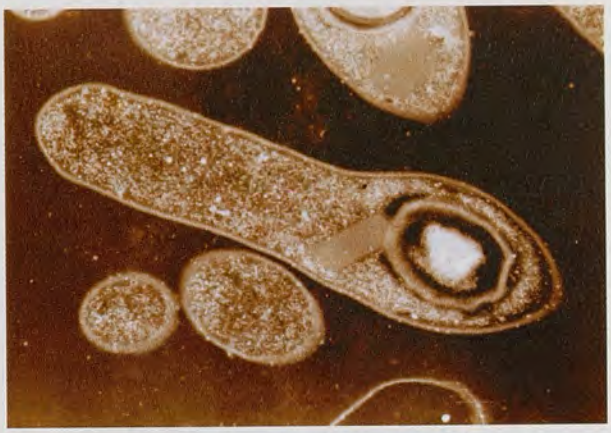
A missão do Laboratório visa ao estudo dos aspectos bioquímicos e moleculares envolvidos na biologia de tripanossomatídeos, com ênfase em *T. cruzi*, a fim de aumentar os conhecimentos sobre os processos de diferenciação celular, além da descoberta de novos alvos moleculares que possam ser eventualmente usados na quimioterapia da doença de Chagas. Pesquisas em andamento: 1) fatores envolvidos na metaciclogênese de *T. cruzi*; 2) expressão de proteases durante a diferenciação de *T. cruzi*; 3) desenvolvimento de antígenos recombinantes para o diagnóstico imunológico da doença de Chagas; 4) mecanismo de regulação de expressão gênica de *T. cruzi;* 5) clonagem e expressão de genes que codificam enzimas alvo para a quimioterapia da doença de Chagas.



Kit Chagas

Laboratório de Sistemática Bioquímica

Desenvolve pesquisa epidemiológica, sistemática e filogenética de patógenos de importância médica e seus vetores. Pesquisas em andamento: 1) tipagem feno e genotípica de *Leishmania* e *T. cruzi* de focos endêmicos do Brasil e outros países latino-americanos; 2) caracterização fenética e filogenética do gênero *Leishmania*; 3) estudo do polimorfismo genético no gênero *Bacillus,* em especial nas cepas entomopatogênicas; 4) estudo molecular de espécies crípticas de anofelinos vetores de malária no Brasil; 5) estudo da reativação da doença de Chagas em pacientes HIV positivos; 6) epidemiologia molecular



Bacillus sphaericus. Foto: A. Yousten

e taxonomia de *V. cholerae*; 7) rastreamento epidemiológico e molecular de vetores de segunda linha da doença de Chagas.

Laboratório de Biologia Molecular e Diagnóstico de Doenças Infecciosas

Estuda os aspectos de biologia molecular de agentes infecciosos, em especial os tripanossomatídeos e micobactérias, o desenvolvimento de sistemas de diagnóstico com a utilização de sondas de DNA e PCR e a expressão gênica em procariotos, com aplicação na produção biotecnológica. Pesquisas em andamento: 1) estudos da biologia molecular de tripanossomatídeos: organização de kDNA, genes de miniexon, projeto genoma de parasitos, em especial *T. cruzi*; 2) desenvolvimento de sondas e sistemas de PCR para o diagnóstico rápido e sensível da hanseníase e da tuberculose; fingerprinting de isolados de *Mycobacterium tuberculosis*; 3) análise computacional de seqüências nucleotídicas e protéicas e construção de banco de dados.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Bioquímica, Fisiologia e Imunologia de Insetos

A perspectiva do Laboratório é a compreensão, em nível molecular, da influência do sistema endócrino-imunológico no desenvolvimento de triatomíneos e dos parasitas *T. cruzi* e *T. rangeli* no inseto vetor. Em outras palavras, entender como o

barbeiro torna-se refratário ao parasita, usando diferentes mecanismos para destruir o parasita (como lise, destruição pelos fatores de defesa, etc.) ou identificar moléculas nos vetores susceptíveis que determinam o desenvolvimento do parasita (como peptídeos derivados da hidrólise da globina) visando bloqueá-las, a longo prazo, por manipulações moleculares. Assim, serão investigados, nos campos da bioquímica e da biologia molecular, fatores que bloqueiam ou estimulem o desenvolvimento do parasita no vetor; processos biológicos que controlam o microambiente intestinal onde os parasitas sobrevivem e se desenvolvem; moléculas naturais ou sintéticas que interfiram em processos biológicos reguladores do vetor e que alterem o habitat do parasita.

Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas

Pretende abordar as seguintes linhas de pesquisa: desenvolvimento de métodos baseados em PCR quantitativa para estimar a carga parasitária em pacientes chagásicos crônicos – ou seja, medir o nível de parasitas presentes no sangue e nos diversos órgãos; investigar o papel deste parâmetro na patogenia das diferentes formas clínicas da doença de Chagas; investigar a possibilidade de utilização das estimativas de carga parasitária como base para o estabelecimento de critérios de cura de pacientes submetidos à quimioterapia; desenvolvimento de sondas fluorogênicas específicas para grupos definidos de *T. cruzi* (*T. cruzi* I e II) e investigar sua utilização em estudos de epidemiologia molecular.

Laboratório de Biologia Molecular de Flavivírus

A perspectiva é desenvolver vírus amarílicos vacinais recombinantes expressando antígenos de dengue e malária, caracterizar a produção em cultura de tecido e determinar a imunogenicidade dos mesmos.

Laboratório de Biologia Molecular de Tripanossomatídeos e Flebotomíneos

A perspectiva é continuar o estudo com enfoque molecular de *Leishmania* spp. e expandir as linhas de pesquisa em entomologia molecular, especialmente do inseto vetor deste parasita.

Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos

Tem como principal perspectiva fortalecer os conhecimentos estruturais e funcionais de proteínas e peptídeos de agentes infecciosos e parasitários. As linhas de pesquisa em andamento nos permitirão propor novas alternativas para o controle da algumas doenças (leishmaniose, doença de Chagas, síndrome da imunodeficiência adquirida, entre outras), seja do ponto de vista da quimioterapia específica ou da imunorregulação. Assim, novas proposições de condutas terapêutica, diagnóstica e, em alguns casos, de vacinação com antígenos molecularmente definidos, poderão ser implementadas.

Laboratório de Imunopatologia

A perspectiva principal é a investigação dos processos imunorregulatórios envolvidos na decisão de uma resposta protetora *versus* aquela que induz a doença produzida por *Leishmania* ou *T. cruzi*. Essa busca permitiria a identificação de marcadores moleculares, do parasita e/ou do hospedeiro, que poderiam ter um papel de definir condutas não somente terapêuticas, mas também diagnósticas, e dariam suporte a estratégias de controle epidemiológico, principalmente no que se refere a esquemas de vacinação.

Laboratório de Regulação da Expressão Gênica

Espera avançar na sua pesquisa de elucidação dos mecanismos de regulação da expressão gênica em *T. cruzi*. O desenvolvimento, recentemente, de um método de subtração gênica permitiu que vários genes expressos de maneira estágio-específica fossem isolados durante o processo de metaciclogênese. O estudo desses genes, e de suas regiões reguladoras, deverá gerar importantes conhecimentos na área de biologia molecular de *T. cruzi*. Por outro lado, esperamos obter a estrutura cristalográfica de várias proteínas de *T. cruzi* que estão sendo expressas no Laboratório, utilizando técnicas de DNA recombinante e, assim, provermos novas informações para o desenvolvimento de drogas com atividade de tripanocida. Concomitantemente a esta linha principal de pesquisa, novos projetos estão sendo desenvolvidos visando à melhor compreensão da patogênese do vírus da dengue. Associados à atividade de pesquisa, novos recursos humanos serão treinados em todos os níveis, da iniciação científica ao pós-doutoramento.

Laboratório de Sistemática Bioquímica

A perspectiva é continuar os estudos das seguintes linhas de pesquisa: 1) a biodiversidade de bactérias de utilização para o controle biológico; 2) desenvolver marcadores genéticos para *V. cholerae;* 3) estudar a tipagem fenotípica e a

genotípica de *Leishmania* e *Trypanosoma*; 4) estudar a malária sob o ponto de vista da complexidade taxonômica das espécies de anofelinos, elucidando aspectos relacionados com a competência vetorial em diferentes regiões do país.

Laboratório de Biologia Molecular e Diagnóstico de Doenças Infecciosas

Tem como principal perspectiva contribuir para o mapeamento e seqüenciamento dos genomas de *Leishmania* e *T. cruzi* (e.g. o cromossoma 2 de *L. major* Friedlin e loci de especial interesse em *T. cruzi* CL-Brener), em colaboração com as iniciativas internacionais em curso, e para a análise de dados destes projetos através de biologia computacional. Além disto, o Laboratório iniciou a caracterização funcional de vários genes chaves e alguns de função totalmente desconhecida em *T. cruzi*. Na área de micobactérias, continuará seus esforços na tipagem de cepas micobacterianas, em especial *M. tuberculosis*, e no estudo da expressão gênica e função de operons selecionados em *M. tuberculosis*, *M. smegmatis* e BCG.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

CHEFE: *Patricia de Azambuja Penna*

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DE FLAVIVÍRUS

CHEFE: *Ricardo Galler*

Myrna Cristina Bonaldo	Pesquisador Titular
Philippe Coufer	Pesquisador Visitante/CNPq
Ricardo Galler	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DE TRIPANOSSOMATÍDEOS E FLEBOTOMÍNEOS

CHEFE: *Yara Traub-Cseko*

Alexandre Afrânio Peixoto	Pesquisador Adjunto
Yara Maria Traub-Cseko	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR E DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS

CHEFE: *Wim Mauritis Degrave*

Harrisson Magdimier Gomes	Pesquisador Assistente
Leila de Mendonça Lima	Pesquisador Adjunto
Maranibia Aparecida Cardoso	Pesquisador Assistente
Philip Noel Suffys	Pesquisador Visitante/CNPq
Wim Mauritis Degrave	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR E DOENÇAS ENDÊMICAS

CHEFE: *Constança F. P. Britto*

Carlos Médicis Morel	Pesquisador Titular
Constança F. P. Britto	Pesquisador Visitante/Faperj
Maria Angélica Batista Cardoso	Tecnologista
Nédia Saad Nehme Russell	Tecnologista

Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos
Chefe: *Salvatore Giovanni De Simone*

Carlos Roberto Alves	Pesquisador Adjunto
Luciana Jansen de O. Figueiredo	Pesquisador Visitante/Faperj
Salvatore Giovanni De Simone	Pesquisador Visitante/UFF

Laboratório de Bioquímica, Fisiologia e Imunologia de Insetos
Chefe: *Maria Denise Feder*

Cicero Brasileiro de Mello Neto	Pesquisador Visitante/UFF
Eloi de Souza Garcia	Pesquisador Titular
Marcelo Salabert Gonzalez	Pesquisador Visitante/UFF
Maria Denise Feder	Pesquisador Visitante/Faperj
Patricia de Azambuja Penna	Pesquisador Titular

Laboratório de Imunopatologia
Chefe: *Claude Pirmez*

Claude Pirmez	Pesquisador Titular
Thereza Christina B. Andrade	Tecnologista

Laboratório de Regulação da Expressão Gênica
Chefe: *Samuel Goldenberg*

Bruno Dallagiovanna	Pesquisador Visitante/CNPq
Claudia Nunes Duarte dos Santos	Pesquisador Associado
Didier Salmon	Pesquisador Visitante/CNPq
Jussara Salles	Pesquisador Visitante/UFF
Jutta Gerlinde Birgitt Linss	Pesquisador Titular
Marco Aurélio Krieger	Pesquisador Adjunto
Mônica Angélica C. Carreira	Pesquisador Visitante/CNPq
Samuel Goldenberg	Pesquisador Titular
Stênio Perdigão Fragoso	Pesquisador Titular

Laboratório de Sistemática Bioquímica
Chefe: *Raquel da Silva Pacheco*

Andiaria Ramos da Silva	Tecnologista
Carlos Andre Salles	Pesquisador Titular
Hooman Momen	Pesquisador Titular
Maria Goreti Rosa Freitas Sibajev	Pesquisador Titular
Raquel da Silva Pacheco	Pesquisador Titular
Verônica Vieira	Pesquisador Visitante/Faperj
Viviane Zahner	Pesquisador Adjunto

DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA

HISTÓRICO

A entomologia representa uma das mais antigas e tradicionais escolas do Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Os registros históricos do Departamento mesclam-se com os do próprio IOC, que têm como marca registrada as expedições científicas pioneiras, realizadas desde 1900, para a captura e estudos dos insetos e das endemias por eles transmitidas.

O primeiro trabalho do Instituto de Manguinhos, foi a descrição de uma espécie, o *Anopheles lutzi*, pelo próprio Oswaldo Cruz, em 1901, durante um surto de impaludismo no Rio de Janeiro. Iniciava-se, com isso, a Coleção Entomológica e inauguravam-se os estudos de entomologia médica por pesquisadores brasileiros. Com efeito, a transmissão da malária por anofelinos só havia sido descoberta há três anos, na Itália. O segundo trabalho sobre entomologia também foi publicado pelo patrono do Instituto; tratava-se da descrição de um novo gênero de anofelinos, gênero *Chagasia* Cruz, 1906.

Durante 1906 e 1907, Carlos Chagas, Oswaldo Cruz e Arthur Neiva dedicaram-se aos estudos dos mosquitos, descobrindo sete novas espécies ou gêneros. Em 1909, Lutz e Neiva iniciaram no Instituto estudos sobre tabanídeos e borrachudos.

Nas duas primeiras décadas de vida do Instituto, Neiva, Chagas, Henrique Aragão, Adolpho Lutz e Costa Lima publicaram artigos sobre assuntos entomológicos e foram elaboradas quatro importantes teses sobre mosquitos, carrapatos, barbeiros e pulgas, respectivamente, por Antonio Gonçalves Peryassu, em 1908, Carlos Rohr, em 1909, Arthur Neiva e Almeida Cunha, ambas em 1914. Ressalta-se a contribuição de Neiva quanto à bionomia e sistemática dos triatomíneos, quando esses insetos acabavam de figurar entre aqueles de elevada importância sanitária, em vista das descobertas de Carlos Chagas sobre a tripanossomíase americana.

Reprodução do auto-retrato de Leonidas Deane por Chico Caruso

Na década de 30, Cesar Pinto publica um artigo sobre os artrópodes, parasitos e transmissores de doenças, Lauro Travassos, Hugo de Souza Lopes e Fabio Werneck iniciam uma série de publicações sobre os lepidópteros, moscas e piolhos e Costa Lima inicia sua obra, publicada em doze volumes, até 1960, sobre os insetos do Brasil.

Destacam-se, ainda, desde o início do século até meados da década de 60, importantes contribuições de Lutz, Neiva e Otávio Mangabeira-Filho quanto aos transmissores das leishmanioses, com a descrição de numerosas espécies de flebótomos.

Além dos citados cientistas, o Departamento possuiu em seu quadro pesquisadores de renome internacional: Herman Lent, Gustavo de Oliveira Castro, Rudolf Barth e Leonidas de Mello Deane.

Até início dos anos 70, muitos dos transmissores de doenças foram conhecidos graças aos trabalhos de campo de alguns pesquisadores que contribuíram para ampliar os conhecimentos sobre a fauna de mosquitos, flebotomíneos, borrachudos e triatomíneos.

A partir da década de 80, guiados por Leonidas Deane, jovens pesquisadores retomaram a prática de expedições científicas que propiciam a maior parte da produção científica do Departamento.

Hoje, o Departamento está constituído por seis laboratórios: Laboratório de Díptera, Laboratório de Ixodides, Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Laboratório de Transmissores de Leishma-niose e Oncorcercose e pela Coleção Entomólogica. Esta última é um dos maiores patrimônios entomoló-gicos do país, abrigando mais de um milhão e duzentos mil exemplares de insetos, abrangendo todas as ordens. Vincu-

lada ao Departamento, acha-se a Coleção de Tripanossomatídeos, contando com cerca de 370 amostras de distintos gêneros desses parasitos. No momento, as coleções estão sendo infor-matizadas para atualizar, preservar, divulgar e agilizar a obtenção das informações nelas contidas.

Além da dedicação à investigação científica, pesquisadores do Departamento estão engajados na formação de recursos humanos, orientando teses, ministrando cursos de capacitação profissional para técnicos de laboratório, mestres e doutores. Regularmente, são oferecidos vários cursos entre eles o de pós-graduação em nível de especialização em entomologia e disciplinas incluídas nos programas de pós-graduação do IOC.

Os diversos grupos de pesquisas, através de sua capacitação em atividades de laboratório e de campo, vêm continuadamente treinando jovens que passam a integrar as equipes.

Quanto às linhas de pesquisa, destacam-se estudos nas áreas de taxonomia, biologia, morfologia, embriologia, epidemiologia, bioquímica e biologia molecular de insetos vetores e interações parasita-hospedeiro-invertebrado. Torna-se importante mencionar a contribuição do Departamento em termos de biodiversidade. Nos últimos vinte anos foram descritas espécies novas, principalmente de vetores transmissores de doenças.

Cabe ressaltar, ainda, que o Departamento mantém insetários especializados para mosquitos, flebótomos e triatomíneos onde são criadas várias espécies de importância médica destinadas às diversas linhas de investigação.

Coleção Entomológica

A Coleção começou a ser formada nos primórdios do IOC. Em 1909, uma publicação institucional *Instituto Oswaldo Cruz em Manguinhos*, ao referir-se às culturas e coleções, diz que "existe mais coleção de mosquitos brasileiros, constituída de exemplares adultos, larvas, ninfas, desenhos elucidativos diferentes e preparados microscópicos. Ainda há ricas coleções de tabánidas (mutucas), ixódidas (carrapatos), além de outros animais sugadores pertencentes aos dipteros (borrachudos, maruins), hemipteros (barbeiros, percevejos, etc.), afanípteros (pulgas, etc.)". Segue-se, na publicação, uma lista com a coleção de mosquitos (195 espécies), de tabánidas (145 espécies) e de ixódidas (40 espécies).

Em 1935, Cesar Pinto, no artigo "Instituto Oswaldo Cruz", publicado na revista *O Campo*, ao tratar das coleções científicas, comenta: "A Coleção Entomológica organizada pelo Prof. A. M. da Costa Lima é na sua grande maioria formada por insetos pertencentes a grupos de interesse agrícola, médico e veterinário. Possui 2.351 lâminas contendo insetos montados, 1.070 insetos em frascos e 50 gavetas praticamente cheias". "A coleção de Lepidópteros organizada pelo Prof. Lauro Travassos, consta de 25.000 exemplares, sendo 3.434 catalogados e determinados. Além deste material existe uma coleção de Muscoideos e outros insetos colecionados por Dr. Hugo Souza Lopes e L. Travassos".

A coleção organizada por Cesar Pinto, possui 3.037 insetos, sendo 1.762 montados em lâminas e 1.275 montados em alfinetes. Esta coleção é formada de insetos de interesse médico e veterinário. A coleção organizada por Fábio Werneck consta de 1.377 lâminas contendo Anopluras e Mallophagas colhidas em 786 mamíferos, além de 184 amostras conservadas em álcool. A ordem Anopluras está representada por 54 espécies provenientes da América do Sul, Estados Unidos, Europa e África do Sul, com cerca de 25% das espécies conhecidas. A ordem Mallophagas está representada por 86 espécies provenientes da América do Sul, Estados Unidos, Europa, África do Sul e Austrália. Além dessas coleções, Adolpho Lutz, há muitos anos, organizou uma preciosíssima coleção zoológica que é seguramente uma das mais importantes que o Instituto possui.

A Coleção teve um grande avanço na década de 60, quando foi abrigada em uma estrutura de fer-

Acervo da Coleção Entomológica

ro, com três andares, que ocupava uma das salas do 2º andar do Castelo. Infelizmente, em 1970, logo depois do "Massacre de Manguinhos", toda essa estrutura foi destruída, o seu acervo transferido para o porão do Hospital Evandro Chagas; só voltou, em 1976, para onde se encontra hoje, graças a pertinácia do pesquisador José Jurberg.

Atualmente, a Coleção possui cerca de dois milhões de insetos, de várias ordens, vetores de doenças ou não, aí considerado todo o material montado em alfinetes, em lâminas ou conservado em álcool. Possui ainda material não contabilizado neste total, composto principalmente por lepidópteros, guardados em envelopes de papel.

Laboratório de Diptera

Em função de uma reestruturação no IOC, quando foram estabelecidos os laboratórios como unidades técnicas, Leonidas Deane, especialista em dípteros nematóceros (Culicidae, Psychodidae, Ceratopogonidae e Simulidae), foi convidado para chefiar o Departamento. Nessa oportunidade foi criado o Laboratório, envolvendo estudos dos Culicidae, Psychodidae Phlebotominae, Ceratopogonidae e Ciclorrapha, cuja importância está condicionada ao grande número de vetores que constituem a Ordem Diptera.

Anopheles sp. (Diptera: Culicidae)

Para melhorar os conhecimentos superficiais adquiridos no decorrer dos cursos de graduação, o Departamento, através do Laboratório, achou por bem coordenar um curso de especialização em entomologia, junto ao Departamento de Ensino, que já vem funcionando desde 1993, preparando pessoal oriundo de vários estados, ligados tanto à repartições públicas, como à Fundação Nacional de Saúde, FNS, secretarias de saúde estaduais e municipais, assim como universidades federais e estaduais. O corpo docente que leciona nas quatro disciplinas que compõem o curso é todo do Departamento, sendo respeitada a especialidade de cada pesquisador para melhor aproveitamento dos alunos.

No decorrer destes seis anos do Laboratório foram defendidas 33 monografias baseadas em trabalhos originais.

Laboratório de Ixodides

A acarologia teve em Manguinhos grande projeção quando Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão, notável protozoologista da época, tomou o compromisso do estudo sistemático dos carrapatos, no início do século. Em 1909 foi apresentada a primeira tese sobre carrapatos no Brasil, de autoria de Carlos Rohr e orientação de Henrique Aragão, à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro; era a primeira contribuição do IOC na formação de pesquisadores em acarologia.

Amblyomma cajennense

Aragão chefiou o laboratório de estudos com ácaros-carrapatos até 1956, quando faleceu; depois disso as atividades de pesquisa nesse assunto declinaram e as coleções quase estagnaram pela falta de pessoal qualificado.

Em 1992, Nicolau Maués da Serra Freire aceitou colaborar com o IOC através de convênio de cooperação científica bilateral assinado entre a UFRRJ e a Fiocruz para prestar serviço na Coleção Entomológica buscando a reativação dos trabalhos com ácaros no IOC e a revitalização da Coleção Ixodológica Henrique Aragão.

Devido à produção científica, à aglutinação de estagiários, alunos de pós-graduação e ao fluxo contínuo de recebimento de material para identificação, em 1994 foi proposta e aceita a criação do Laboratório como uma nova unidade do Departamento.

Laboratório de Transmissores de Hematozoários

O Laboratório foi iniciado em 1981, sob a coordenação de Lenidas M. Deane, para se desenvolverem estudos, em laboratório e no campo, sobre o *Anopheles cruzii*. Para isso, foi criado o insetário de mosquitos que funciona até hoje, servindo de suporte para vários projetos desenvolvidos no IOC e fora dele. O núcleo inicial do Laboratório era constituído por Mércia Arruda, Arquibaldo Bello Galvão e Neide Guitton, além de Deane.

O crescimento do Laboratório, em termos de pessoal e projetos, deu-se a partir de 1982, quando começou a formar profissionais, através do sistema de estágio e de orientação de alunos de pós-graduação, e amplificou as linhas de pesquisa, passando a estudar a transmissão da malária humana na Amazônia e a ecologia de mosquitos de planície. O credenciamento ocorreu em 1992, tendo Deane como seu responsável.

Leonidas Deane, por sua contribuição ao estudo das endemias e dos seus transmissores, recebeu os seguintes prêmios: Medalha Oswaldo Cruz, Prêmios "Moinho Santista", "Almirante Álvaro Alberto" e "Academia do Terceiro Mundo". Havia menos de um ano do credenciamento do Laboratório quando o nosso líder deixou nosso convívio e o pesquisador Ricardo Lourenço de Oliveira assumiu a responsabilidade pelo grupo.

Hoje, o Laboratório é constituído por sete pesquisadores (três doutores e quatro mestres), três técnicos, além de biólogos e estudantes. Teve treze projetos financiados nos últimos anos por agências financiadoras nacionais (nove) e estrangeiras (quatro). As publicações incluíram um livro, um capítulo de livro e cerca de oitenta artigos completos. Coordenamos disciplinas nos cursos de pós-graduação e técnico do IOC e um curso de especialização para o nível médio.

A organização da Coleção de Tripanossomatídeos teve início, informalmente, no Departamento de Protozoologia, a partir de 1991. Em 1993, a coleção já contava com cerca de 100 amostras e foi incluída na Primeira Jornada das Coleções Científicas da Fundação Oswaldo Cruz; este evento propiciou o início do seu reconhecimento institucional. Em 17 de outubro de 1995, a Coleção obteve o reconhecimento oficial da Câmara de Pesquisa do IOC como Núcleo Coleção de Tripanossomatídeos e, logo após, conquistou seu primeiro espaço físico, ainda no Departamento de Protozoologia.

A partir de 2 de junho de 1998 vinculou-se, administrativamente, ao Departamento de Entomologia. Atualmente, a Coleção tem cerca de 370 amostras (espécies, cepas, clones, etc.) pertencentes a diferentes gêneros da família Trypanosomatidae e possui normas próprias para atendimento a solicitações, depósito de organismos e outras prestações de serviços. Já atendeu a 138 pedidos de tripanossomatídeos para atividades de ensino, auxílio em diagnóstico e pesquisa, tendo em seus registros o apoio a 96 projetos científicos tanto do IOC como de outras instituições do país ou do exterior. A Coleção também tem recebido espécies e novos isolados para depósito oriundos de pesquisadores nacionais ou estrangeiros e colaborado com diversos profissionais na identificação e verificação da autenticidade de amostras.

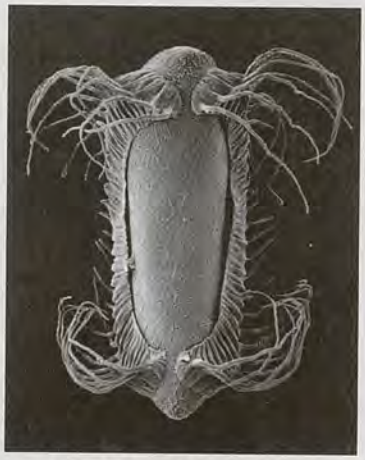
Laboratório de Transmissores de Leishmaniose e Oncocercose

Na década de 70, pela cooperação de pesquisadores brasileiros e ingleses (*Natural History Museum*), foi criado o setor de simulídeos e oncocercose do IOC, com o intuíto de estudar vetores e mecanismos de transmissão dessa parasitose na Amazônia.

A elevada freqüência de casos humanos de leishmaniose tegumentar e a constatação da presença de leishmaniose visceral autóctone no estado do Rio de Janeiro levaram a chefia do Departamento a criar, em 1982, o Laboratório cuja finalidade seria buscar respostas para algumas incógnitas que persistiam sobre o conhecimento dessas endemias.

Em 1990, o Conselho Deliberativo do IOC credenciou o Laboratório, resultado da fusão das equipes lideradas por Elizabeth Ferreira Rangel e Marilza Maia-Herzog. Era objetivo comum dos dois grupos a realização de estudos sobre sistématica de vetores, utilizando técnicas bioquímicas e investigações epidemiológicas.

O Laboratório, desde seu credenciamento, investiu na formação de recursos humanos. Os membros da equipe, em sua maioria, iniciaram como estagiários do Laboratório, e tem-se verificado a participação de seus profissionais no treinamento técnico especializado de membros de outras instituições e também na orientação de teses de mestrado e doutorado. Graças à sua produção e ao reconhecimento pela comunidade científica, têm sido desenvolvidos vários convênios nacionais e internacionais que certamente têm contribuído para o fortalecimento institucional, levando-se em conta o envolvimento que o grupo mantém com instituições conhecidas por atuarem na área de doenças tropicais e por seus compromissos ligados à saúde pública.



Ovo de *Anopheles shannoni*

Várias linhas de pesquisa desenvolvidas no Laboratório resultaram em achados que têm contribuído efetivamente para ampliar os conhecimentos sobre epidemiologia das leishmanioses e da oncocercose no Brasil.

Em junho de 1997, foi criado o Núcleo de Morfologia, Anatomia Interna e Ultra-estrutura de Artrópodes Vetores, tendo como principal missão dar suporte às pesquisas desenvolvidas nos outros laboratórios do Departamento, relacionadas com órgãos, sistemas e interação com os agentes etiológicos, principalmente em triatomíneos, flebotomíneos e anofelinos.

O Núcleo, no momento do seu reconhecimento pelo Conselho do Departamento, incorporou-se ao Laboratório e, desde então, este vem produzindo em diferentes linhas de investigação pela comunhão de três grupos de pesquisas.

O Laboratório, ainda atua como prestador de serviços identificando insetos vetores (simulídeos, flebótomos e triatomíneos) e fornecendo flebotomíneos das colônias mantidas no insetário especializado, mesmo para os grupos com os quais não mantém projetos em cooperação.

A cargo dos grupos de pesquisa estão a coordenação de disciplinas em cursos de pós-graduação do IOC e aulas sobre entomologia médica que são ministradas regularmente.

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos

O Laboratório teve o seu nome oficializado em 1989 quando o Ministério da Saúde selecionou o Laboratório de Triatomíneos do IOC para sediar um Centro de Referência que desse suporte às suas ações, visando controlar os triatomíneos vetores da doença de Chagas.

Coube a Arthur Neiva, em 1909, a implantação de uma linha de pesquisa voltada para o estudo dos triatomíneos, tendo publicado inúmeros trabalhos, inclusive sua tese de livre docência, sobre o gênero *Triatoma*, em 1914. Na década de 20 César Pinto se associa a Neiva e, na década de 30, Herman Lent inicia seus trabalhos com triatomíneos. Ao trabalho continuado e sucessivo desses três pesquisadores deve-se o prestígio do Laboratório, cabendo a Lent, a partir de 1935, implantar a estrutura de uma coleção, criando um insetário de triatomíneos.

Em 1º de abril de 1970, Lent e todos os demais pesquisadores do Departamento foram cassados e aposentados por força de um Decreto. Esse triste episódio da história de Manguinhos está narrado no livro *O Massacre de Manguinhos*.

Em 1909, quando se iniciou no Instituto o estudo sistemático dos triatomíneos, eram conhecidas 33 espécies. Neiva e Lent levantaram a existência de 75 em 1936, saltando para 89, distribuídas por diversas regiões zoogeográficas, em 1941. Hoje são conhecidas 129 espécies.

Triatoma carcavalloi Jurberg, Rocha & Lent, 1998

Em abril de 1970 José Jurberg assume a responsabilidade do Laboratório e da Coleção Entomológica do IOC, sendo obrigado a uma grande mudança, quando levou o acervo do Departamento para as instalações inadequadas de um velho hospital.

A partir de 1976, quando o IOC se tornou parte ativa do que hoje é a Fiocruz, regida pela CLT, as condições começaram a se modificar com a melhoria de salários e a possibilidade de contratação de pesquisadores.

Em 1989, graças ao convênio firmado entre a FNS, o Banco Interamericano de Reconstrução e Desenvolvimento e a Fiocruz, foi implantado o Centro de Referência que até hoje se mantém graças aos auxílios e apoio da FNS e da Fiocruz.

Atualmente, o Centro de Referência encontra-se bastante ampliado não só em número de pesquisadores como em linhas de pesquisas; possui a maior coleção de triatomíneos do mundo, com cerca de 24.000 exemplares, sendo constituída das coleções Herman Lent, com 9.000 exemplares, e Rodolfo Carcavallo, com 15.000 exemplares.

Mantém um insetário de grande porte com cerca de 34 espécies acondicionadas em 150 cristalizadores e estufas com temperatura e umidade controladas.

O 3º volume do *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas - Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas*, foi editado, recentemente, pela Editora Fiocruz com apoio do CNPq e da FNS com a colaboração de mais de 40 especialistas internacionais.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Coleção Entomológica

A linha básica de pesquisa da Coleção é, naturalmente, o trabalho de manutenção, catalogação, informatização, atualização e crescimento do acervo, adquirido por compra, por permuta ou, o que é mais comum, coletado no campo, em diversas áreas do nosso território, pelo estudo dos diversos grupos, à medida que especialistas se disponham a neles trabalhar.

No Laboratório estão sendo desenvolvidos projetos relacionados à linha básica de pesquisa: 1) manutenção e desenvolvimento da Coleção Entomológica do IOC; 2) os Tabanidae da Coleção Adolpho Lutz - (Fase "A"); 3) informatização e levantamento de tipos da Coleção Entomológica;

4) determinação da identidade taxonômica e da bioecologia dos ceratopogonídeos e outros dípteros de importância médica e agrícola na Mata Atlântica brasileira.

Paralelamente, outros projetos têm sido desenvolvidos de acordo com a especialidade entomológica de cada pesquisador: 1) estudo das espécies de quironomídeos marinhos que ocorrem no litoral brasileiro; 2) estudo dos gêneros da tribo Chironomini (Insecta, Diptera, Chironomidae, Chironominae) com ênfase nos gêneros *Oukuriella* Epler, 1986 e grupos-irmãos; 3) avaliar a importância epidemiológica de vetores da doença de Chagas: *Triatoma brasiliensis, T. rubrovaria*; 4) levantamento dos Chironomidae da subfamília Tanypodinae do estado do Rio de Janeiro; 5) avaliação biológica da qualidade de água do sistema Paraíba do Sul-Guandu através da análise de macroinvertebrados aquáticos.

Quanto aos estudos de quironomídeos, foram descritas inúmeras novas espécies sendo nove de hábitos marinhos, aproximadamente trinta não marinhas, além de três novos gêneros: *Laurotanypus, Lopescladius* e *Coritybacladius*.

Estudos multidisciplinares mostraram que o *T. brasilienses* apresenta, pelo menos, quatro populações distintas, com importância epidemiológica, caracterizadas de acordo com padrões genéticos, biológicos e ecológicos.

Também foram publicados os levantamentos dos tipos de mosquitos, piolhos e de triatomíneos do acervo da Coleção Entomológica.

Laboratório de Diptera

O Laboratório tem suas pesquisas direcionadas para a ecologia e taxonomia de dípteros vetores potenciais de doenças em áreas de influência de usinas hidrelétricas, parques nacionais, reservas biológicas e urbanas.

São estudos comparativos das taxocenoses de mosquitos (Diptera-Culicidae) em áreas sob a influência do reservatório da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa e a de Corumbá, visando ao conhecimento da biodiversidade e estrutura biocenótica das comunidades existentes, o seu potencial de transmitir doenças ao homem e os problemas relacionados ao seu controle.

Destaca-se, também, o estudo ecológico dos dípteros (mosquitos e moscas) vetores potenciais de doenças na área da Reserva Biológica do Tinguá, município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro.

Pretende-se viabilizar um estudo epidemiológico no sentido de demonstrar como se processa a transmissão da leishmaniose tegumentar na área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Itaipu, através de um amplo estudo sobre a especificidade alimentar dos flebotomíneos em relação ao homem, ao cão e às principais espécies de mamais silvestres e sinantrópicos existentes na região. Dessa forma, seriam investigados todos os elementos envolvidos na epidemiologia da leishmaniose tegumentar, proporcionando uma visão mais abrangente da cadeia alimentar dos flebotomíneos. Estão sendo feitos estudos sobre a ecologia dos flebotomíneos em área de focos ativos de leishmaniose cutânea da orla marítima dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo.

Estudos taxonômico e bioecológico dos ceratopogonídeos neotropicais, estão sendo realizados com enfoque especial para os gêneros hematófagos, predadores e polinizadores.

Pretende-se determinar a identidade taxonômica, além de estudar a bioecologia das espécies de Ceratopogonidae de importância médica, bem como agrícola, na Mata Atlântica. Especialmente, serão estudadas as espécies do gênero *Culicoides* de áreas urbanas e de manguezais do estado do Rio de Janeiro. Estudos relativos à dinâmica de transmissão de certos agentes patogênicos também são alvo de pesquisas.

Laboratório de Ixodides

As principais linhas de pesquisa englobam morfologia, taxonomia e sistemática de estádios imaturos de carrapatos cujo objetivo é descrever a morfologia externa de estádios imaturos da fauna ixodológica brasileira e elaborar chave dicotômica que permita a segura identificação das espécies de carrapatos encontradas no Brasil, ainda nos estádios não sexualmente desenvolvidos.

A linha de pesquisa sobre a análise morfológica de carrapatos adultos, por microscopia óptica eletrônica de varredura, objetiva reestruturar caracteres e atributos de carrapatos adultos de espécies incidentes no Brasil; reavaliar padrões morfológicos de carrapatos discutindo aspectos filogenéticos, evolutivos e classificatório. Esclarecer as questões sobre "espécie" e "complexo de espécies" na fauna ixodológica brasileira.

A validade do genêro *Anocentor* tem como principal objetivo identificar padrões morfológicos, biológicos e bioquímicos que funcionem como caracteres genéricos para *Anocentor*, permitindo a segura diferenciação com o gênero *Dermacentor*, bem como identificar linhas de ontogenia em *A. nitens*.

Com relação à fauna acarológica, o objetivo é identificar as espécies de ácaros parasitos de animais vertebrados e invertebrados e de vida livre, recolhidos de parasitismo em hospedeiros mantidos livres na natureza e capturados intempestivamente, e analisar as relações ecológicas de diversidade, abundância, dominância, similaridade, intensidade de parasitismo e prevalência nas diferentes espécies de hospedeiros examinados.

As outras linhas de pesquisa do Laboratório referem-se à reinvestigação sobre a fauna de malófagos cujo objetivo é identificar piolhos mastigadores parasitos de mamíferos e aves domésticas de guarda e companhia, de produção zootécnica, trabalho e lazer, e silvestres, analisando aspectos ecológicos das populações nos hospedeiros, e dos hospedeiros com os parasitos.

Com relação aos pupíparas, essa linha objetiva identificar pupíparos parasitos de mamíferos e aves domésticas e silvestres, contribuindo com esclarecimentos de morfologia, taxonomia e classificação, bem como analisar o significado do parasitismo frente à ação predatória, à capacidade de vetoração e à etologia do hospedeiro e do parasito.

A outra linha refere-se à morfologia, sistemática e epidemiologia de pulgas que tem como objetivo identificar a fauna de sifonápteros e interações ecológicas; análise da relação parasito/hospedeiro; os índice pulicidiano global e específico; o coeficiente interespecífico a fim de determinar a especificidade ou a inespecificidade dos sifonápteros em relação às espécies de roedores da região; a descrição de formas imaturas de sifonápteros das espécies *Polygenis rimatus* e *Craneopsylla minerva minerva*.

A linha sobre morfologia, biologia e importância das sanguessugas, tem por objetivo identificar aquelas encontradas parasitando animais; desenvolver estudos anatômicos e histológicos correlacionando com caracteres e atributos para taxonomia e sistemática e analisar o significado do parasitismo frente à ação predatória, à capacidade de vetoração e à lesão focal.

Laboratório de Transmissores de Hematozoários

As linhas de pesquisa desenvolvidas incluem estudos sobre ecologia, sistemática morfológica e bioquímica de mosquitos anofelinos e culicíneos vetores, malária e arboviroses; controle biológico de vetores através do uso de fungos entomopatogênicos; a morfologia de mosquitos; a transmissão e epidemiologia das malárias humanas, simianas e aviária, de tripanossomas de mamíferos, de dirofilariose e de arboviroses; embriologia e reprodução de mosquitos.

Nos últimos anos, o Laboratório tem mantido colaboração em forma de projetos com os departamentos de Imunologia, Bioquímica e Biologia Molecular, Virologia, Protozoologia, Micologia, de Ultra-estrutura e Biologia Celular e com centros de pesquisa no Brasil e no exterior. Ao Laboratório estão vinculados o insectário de mosquitos e a coleção de tripanossomatídeos.

Principais contribuições do Laboratório:

Vetores das malária humana, simiana e aviária – Uma série de estudos foi conduzida na Amazônia para se avaliar a importância da hematofagia intra e peridomiciliar do *Anopheles darlingi* e de outros vetores potenciais da malária, em assentamentos agrícolas e extrativistas em Rondônia e em uma tribo indígena, no Mato Grosso. Vimos que a única espécie de mosquito importante na veiculação da malária humana é o *An. darlingi*. Esta espécie transmite malária não só dentro das casas mas, principalmente, ao redor destas. Os demais anofelinos são silvestres, preferem sugar animais e não se aproximam, ou raramente penetram no ambiente antrópico, ao contrário do *An. darlingi* que pica, preferencialmente, o homem, em elevados números, no peridomicílio; é raro longe das casas. Nas malocas de índios, a freqüência de picadas de anofelinos é insignificante e a transmissão da malária nas aldeias é extradomiciliar. Com isto, demonstrou-se que o método convencional de controle da malária, empregado amplamente no Brasil, não se ajusta às condições de vida das populações expostas à doença.

Vimos que, embora a malária simiana por *P. brasilianum*, parasito infectante para o homem, seja bastante espalhada na Amazônia, os hábitos dos seus vetores entre os macacos não facilitam o contato e a transmissão do parasito ao homem. A malária simiana não se constitui em ameaça real à campanha de erradicação da malária humana naquela região.

Descobrimos e estudamos um foco de malária oligossintomática, por *Plasmodium vivax*, em vales serranos do Rio de Janeiro, com influência da Mata Atlântica, onde elevado percentual da população tem anticorpos contra mais de uma amostra de *P. vivax* e que o vetor local é o *An. cruzii*, que se cria em bromélias.

Vimos, pela primeira vez, que as fêmeas de *An. darlingi* podem sugar sangue mais de uma vez para desenvolver seu ovário, o que aumenta a sua importância como vetor do paludismo, e que essa espécie copula tanto no ambiente peridomiciliar quanto junto aos criadouros e do crepúsculo vespertino ao matutino.

Verificou-se que *An. aquasalis* é o único vetor nos surtos de malária na baixada litorânea do Rio de Janeiro, sendo mais abundante e longevo no final das estações chuvosa, e início do estio; a espécie prefere o sangue de vaca, mas suga o homem em caráter oportunístico, dentro ou fora da casa.

Descobriu-se que *Culex saltanensis* é o vetor natural da malária aviária por *P. juxtanucleare*.

Caracterizaram-se alguns promotores de enzimas digestivas em anofelinos vetores da malária do Novo

Mundo. Desenvolveram-se métodos para estudos do desenvolvimento embrionário de mosquitos, descreveram-se os eventos de desenvolvimento do embrião e estabeleceram-se nomenclaturas para estruturas dos ovos.

Vetores da dirofilariose – O primeiro encontro de larvas de *D. immitis* em mosquitos, no Brasil, foi feito pelo Laboratório. Tratavam-se de exemplares de *Aedes scapularis* e *Ae. taeniorhynchus*, coletados no Rio de Janeiro. Verificou-se que a dirofilariose canina tem prevalências distintas de acordo com a paisagem, sendo mais freqüente nas baixadas litorâneas, no Rio de Janeiro e no Maranhão. No Rio de Janeiro, a prevalência entre gatos é baixíssima. Três espécies de mosquitos foram encontradas albergando larvas infectantes: *Ae. scapularis, Ae. taeniorhynchus* e *Cx. quinquefasciatus*; a primeira delas foi considerada como o vetor principal e a última como vetor com papel bastante secundário. O cão é a verdadeira fonte de infecção para os mosquitos. Há transmissão em todas as estações do ano e, diante da elevada prevalência da infecção entre cães e dos hábitos hematofágicos dos mosquitos, acredita-se que muitos casos humanos de dirofilariose ocorram nas baixadas litorâneas do país.

Taxonomia integrada de mosquitos – Descobrimos, através de amplos estudos bioquímico, morfológico, comportamental e molecular, que *An. triannulatus, An. albitarsis* e *An. oswaldoi* correspodem a complexos de espécies crípticas, mas que *An. darlingi* é uma única espécie, embora polimórfica e com comportamento variável.

Estudos originais de ultra-estrutura de ovos de espécies de *Anopheles* jamais descritos a este nível foram feitos. Uma revisão dos mosquitos do subgênero *Dendromyia* foi realizada.

Biologia, transmissão e taxonomia de tripanossomas de primatas não humanos – Estudo morfológico de estágios de desenvolvimento dos tripanossomas permitiu verificar-se que *T. minasense* e *T. rangeli* são espécies polimórficas e que *T. saimirii* é sinônimo de *T. rangeli*. Conseguiu-se, pela primeira vez, cultivar *T. minansense* e, também pela primeira vez, foi encontrado em mico-leão-preto, e *T. cruzi* em espécimens de mico-leão-dourado e em várias outras espécies mantidas em cativeiro.

As principais linhas de pesquisa da Coleção de Tripanossomatídeos são: 1) caracterização de tripanossomatídeos por diferentes abordagens metodológicas; 2) estudos taxonômicos e filogenéticos na família Trypanosomatidae; 3) estudos de diferentes aspectos da biologia dos tripanossomatídeos. Nestas linhas de pesquisa se desenvolve um amplo projeto intitulado "Caracterização morfobiológica, bioquímica e molecular de tripanossomatídeos e suas implicações taxonômicas e filogenéticas" que engloba os trabalhos em realização (ou em fase de conclusão e concluídos) pela equipe da Coleção e pesquisadores colaboradores de outros laboratórios, departamentos ou instituições externas. Até a presente data, nossas atividades de pesquisa geraram uma monografia para obtenção de grau de bacharel, uma tese de mestrado, 46 publicações em revistas indexadas, oito delas sendo artigos completos. Dentre nossos achados, consideramos relevantes a identificação de um novo gênero na família Trypanosomatidae, além da descoberta de fenômenos sugestivos de sexualidade em algumas espécies deste grupo.

Laboratório de Transmissores de Leishmaniose e Oncocercose

Ecologia das leishmanioses – Basicamente, têm sido enfocados aspectos ligados às cadeias epidemológicas de transmissão da leishmaniose tegumentar americana (LTA) apontando possíveis reservatórios do parasito e sugerindo potenciais transmissores buscando, também, o conhecimento dos elos que compõem a cadeia epidemiológica primária e sua conexão com o foco "urbano". Nesse sentido, *Lutzomyia whitmani* e *L. migonei* foram encontradas, pela primeira vez, infectadas por *Leishmania (V.) braziliensis* no estado do Ceará, sendo sugeridas como vetores primário e secundário, respectivamente.

No estado do Rio de Janeiro, após os achados de Aragão, em 1921, *L. intermedia* foi encontrada com infeção natural por *Leishmania (Viannia)*, supostamente *L. (V.) braziliensis*. Estudos sistematizados sobre os hábitos dessas espécies, aliados aos achados de infecção natural, vêm sugeri-la como importante transmissor de LTA, no Brasil.

A cadeia de transmissão da *L. (V.) braziliensis* começa a reconhecer elos importantes quando, no estado do Rio de Janeiro, animais domésticos (cães e eqüinos) são sugeridos como reservatórios secundários

Lutzomia intermedia, vetor de leishmaniose cutânea no Rio de Janeiro

e as preguiças *Bradypus variegatus* como reservatórios primários e, possivelmente, como elo de ligação com a transmissão em áreas periurbanas.

Entomologia molecular e taxonomia bioquímica aplicadas aos estudos dos transmissores das leishmanioses – Estudos são direcionados para os flebótomos que possam representar complexos de espécies, ou mesmo subpopulações heterogêneas, talvez, envolvidas em diferentes mecanismos de transmissão e, ainda, novas abordagens para o controle das leishmanioses. Técnicas moleculares e bioquímicas têm sido aplicadas aos estudos sobre taxonomia, identificação genética, reconstrução filogenética de espécie de flebótomos e busca de alvos moleculares adequados para o controle dos vetores. Destacam-se nesses aspectos *L. whitmani*, importante transmissor de LTA que, pode ser considerado como um complexo de espécies, sendo reconhecidas, pelo menos três diferentes linhagens no Brasil.

O status taxonômico de *L. longipalpis*, vetor de leishmaniose visceral, vem sendo discutido desde 1969 e os estudos realizados com populações brasileiras indicam tratar-se de uma única espécie, pelo menos no Brasil. Entretanto, levanta-se a idéia de que a população da Gruta de Lapinha, Minas Gerais, não represente de fato a população brasileira, considerando os estudos de genética populacional.

A heterogeneidade em *L. intermedia*, importante transmissor de *L. (V.) braziliensis* no Sudeste do Brasil, investigada em populações do estado do Rio de Janeiro sugere um polimorfismo nos espécimens silvestres, atribuído possivelmente às variedades de fontes alimentares.

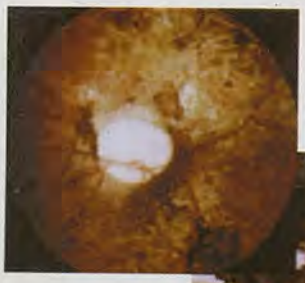
Estudos sobre a interação Leishmania-hospedeiro invertebrado – Alguns aspectos fundamentais para o entendimento do mecanismo de transmissão das leishmanioses ainda persistem como tópicos a serem melhor esclarecidos, tais como fatores que interagem na relação *Leishmania*-hospedeiro invertebrado, graus de susceptibilidade, mecanismo de adesão do parasito ao epitélio intestinal do vetor, carboidratos como dieta alimentar de flebótomos vetores, entre outros. Nesse sentido, estudos relacionados com infecções experimentais tornam-se necessários. Para esse fim, a equipe lança mão do insetário onde são criados importantes transmissores, entre eles *L. longipalpis, L. intermedia* e *L. whitmani*. Alguns estudos foram concluídos sobre o desenvolvimento de cepas de *Leishmania* do subgênero *Viannia* em *L. intermedia*, especialmente *L. (V) braziliensis*. O estabelecimento de infecção em condições experimentais é um dos critérios fundamentais para incriminar uma espécie de flebótomo como transmissora.

Componentes da dieta alimentar de fêmeas de flebótomos são considerados importantes para o desenvolvimento da *Leishmania* no vetor e, também, para conferir competência vetorial às espécies de flebotomineos. Estudos recentes demonstraram que pool de açúcares (frutose, sucrose, maltose, tretralose e melezitose) acrescido de uma fonte de aminoácidos (meio de Schneider) seria a dieta ideal para a manutenção de *L. longipalpis* para estudos de infecções experimentais bem sucedidos.

Taxonomia e sistemática de simulídeos – A Coleção de Simulídeos possui espécimes de quase a totalidade das espécies representadas no Brasil, sendo particularmente importante em relação aos vetores da oncocercose e mansonelose, pois nela estão depositados exemplares das espécies vetoras destas doenças no país, procedentes de localidades-tipo e dos focos da doença. A coleção é permanentemente incrementada com exemplares capturados durante expedições científicas incumbidas aos pesquisadores do Laboratório. São ao todo mais de 5.000 exemplares com 1.400 localidades de coletas realizadas e registradas desde 1975 até o momento. Os exemplares são imagos e imaturos de simulídeos, coletados em diferentes localidades nas diversas regiões geográficas do Brasil. Nos livros de registro encontram-se informações sobre as localidades de coleta e detalhes sobre os criadouros.

Epidemiologia da oncocercose – O foco principal da oncocercose no Brasil situa-se na Amazônia, ao noroeste do estado de Roraima e extremo norte do estado do Amazonas. Foi descoberto em 1974 e ocupa praticamente todo o território brasileiro dos índios yanomamis, com população estimada em 7.000 indivíduos. Grande parte da situação entomológica, no foco, foi elucidada pelas pesquisas iniciadas na década de 70 pelos pesquisadores do Laboratório em colaboração com o Museu Britânico de História Natural (NHM). Recentemente, este mesmo grupo de pesquisas, IOC/NHM, publicou uma revisão científica desse foco, onde são fornecidos dados sobre a identificação dos simulídeos, incriminação dos vetores, biologia e taxas de infectividade. Alguns desses dados entomológicos têm sido utilizados pela FNS como base para o programa de controle da oncocercose no Brasil. Atualmente, esses grupos colaborativos perseguem duas áreas de pesquisas afins: monitoramento para o programa de controle da FNS e verificação da dispersão da doença do foco amazônico para outras localidades no país. O monitoramento é efetuado através de técnicas moleculares recém-implantadas no IOC para obtenção das taxas de infectividade do parasito nas espécies vetoras. As pesquisas sobre dispersão fo-

ram iniciadas com duas finalidades: levantamento da fauna e distribuição das espécies de simulídeos antropofílicas que podem atuar como vetoras no Brasil e o levantamento sobre a taxa de infecção da oncocercose em garimpeiros ou indivíduos de risco, empregando-se novas técnicas imunológicas e moleculares disponíveis também na Fiocruz. Para tanto, coletou-se um total de 534 amostras em Minaçu e arredores para inquérito sorológico em 1992, 1995 e 1996; dessas quinze (2,82%) foram positivas quando testadas pela presença de anticorpos para *O. volvulus*. Realizaram-se biópsias em quatro indivíduos soropositivos; quando examinadas pela prova de DNA, três foram positivas. Testaram-se pelo método de Mazzotti seis indivíduos, dos quais quatro foram positivos.



A oncocercose é uma doença endêmica parasitária que tem como agente etiológico o filarídeo *O. volvulus*. A doença é de evolução crônica, diagnóstico difícil, tratamento demorado e os principais sintomas são: coceira intensa, gerodermia, nódulos e por fim a cegueira irreversível. Essa parasitose está presente nos países tropicais, principalmente na África, onde 17 milhões de casos foram registrados. Nas Américas foram registrados cerca de um milhão de casos, ocorrendo no México, Guatemala, Colômbia, Equador, Venezuela e Brasil. A oncocercose é transmitida ao homem por várias espécies de insetos do gênero *Simulium*, vulgarmente conhecidas no Brasil por borrachudos ou piuns.

Nas Américas, como existem diferenças na epidemiologia para cada país afetado, o programa de controle não pode ser o único. O controle é subvencionado por agências financiadoras internacionais através do Programa para a Eliminação da Oncocercose nas Américas e é efetivado através da distribuição, para os indivíduos infectados, de Ivermectina, um anti-helmíntico que age lenta e progressivamente sobre os parasitos.

Controle biológico de simulídeos – Esta linha vem sendo implantada no Laboratório, a partir de 1999, e visa isolar e caracterizar patógenos de larvas de simulídeos que apresentem potencial para utilização em atividades de controle.

O controle biológico de simulídeos data do início da década de 80 com a utilização de *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*. No Brasil, o primeiro programa de controle de simulídeos com este agente microbiano deu-se em 1989 no estado de São Paulo e vem sendo realizado com sucesso até o dia de hoje, porém com alto custo.

A despeito dos bons resultados obtidos, a procura de outros patógenos naturais das espécies de simulídeos autóctones brasileiras, com ênfase para vírus, protozoários e bactérias, poderá viabilizar métodos alternativos de controle tão eficientes e com menor custo.

Anatomia interna, ultra-estrutura e citoquímica de órgãos e sistemas de vários gêneros de triatomíneos e de anofelinos – A biologia, morfologia e fisiologia de insetos vêm se intensificando, principalmente no que se refere aos transmissores de doenças. No núcleo, temos realizado estudos sobre a morfologia e fisiologia dos túbulos de Malpighi de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), verificando que nesses insetos ocorrem modificações ultra-estruturais no epitélio do órgão, em relação ao tamanho de microvilos e presença de mitocôndrias, intimamente associadas com o ciclo alimentar, além de uma variação quantitativa, morfológica e de composição mineral de esferocristais, determinadas por microanálise de raios-X.

Simuilium oiapockense roraimense

A análise dos folículos testiculares de triatomíneos, a fim de verificar a ocorrência de variação interespecífica, tem sido realizada baseando-se principalmente em aspectos morfométricos. Em populações de *Triatoma brasiliensis* obtidas de diferentes localidades no Brasil, têm-se constatado diferenças tanto em relação aos folículos quanto às glândulas acessórias de uma das populações. A análise ultra-estrutural de ovos de ano-felinos do subgênero *Nyssorhynchus*, em colaboração com o Laboratório

de Hema-tozoários, permitiu confirmar dois tipos morfológicos de ovos de *An. triannulatus*. Também através da microscopia eletrônica de varredura, realiza-se a análise comparativa de ovos, ninfas e adultos de *R. brethesi*, *R. neglectus* e *R. prolixus*, em colaboração com o Departamento de Medicina Tropical.

Caracterização histológica, ultra-estrutural e bioquímica de cepas isoladas de triatomíneos silvestres; estudo da interação parasito/hospedeiro invertebrado e da infecção experimental por tripanossomatídeos obtidos em cultura e isolados de insetos – De janeiro de 1989 a abril de 1995, foram coletados 465 espécimes de *T. vitticeps* na localidade de Triunfo, com alta incidência de adultos no domicílio. Foram isolados parasitas a partir das fezes, xenocultivo e hemocultivo. Desde então, realizamos estudos nestas amostras visando à caracterização por técnicas moleculares (perfil de restrição do kDNA e cariótipo molecular, por eletroforese de campo pulsado), encontrando uma diversidade genômica entre os isolados. Paralelamente com o objetivo de avaliar a diversidade desses parasitas, em seis diferentes locais de coleta, realizamos estudos morfológicos e morfométricos, os quais estão sendo complementados com análise ultra-estrutural. Os resultados obtidos, até o momento, evidenciam uma complexa situação epidemiológica, sugerindo uma diversidade de fontes de infecção para *T. vitticeps*, enfatizando o hábito silvestre da espécie, porém, alertando para a incidência nos domicílios, ressaltando a importância de uma vigilância epidemiológica na área. Em colaboração com o Laboratório de Informatização da Coleção Entomológica, estudamos a infecção em camundongos com amostras de *T. cruzi* PB 913, realizando a análise histológica e patogênese desta infecção experimental.

Anatomia e histologia de invertebrados e de vertebrados – Em prosseguimento a uma série de estudos em histologia de invertebrados estão sendo realizadas observações nas glândulas salivares de triatomíneos, onde verifica-se uma variação entre os gêneros. Devido à carência de trabalhos recentes em histologia de insetos, contribuímos com vasta documentação fotográfica dessas glândulas. Em colaboração com o Departamento de Medicina Tropical estamos desenvolvendo uma técnica que permita o corte do exocório de ovos de triatomíneos em histologia clássica. A análise histológica da arquitetura do trato gastrointestinal de jabutipiranga (*Geochelone carbonaria*) mostrou diferenças desse réptil para a maioria dos outros répteis. Em colaboração com o Departamento de Imunologia estudamos a macro e microanatomia de *B. variegatus*, investigando a possibilidade desse vertebrado manter o ciclo silvestre da *L. (V.) braziliensis*.

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos

As linhas desenvolvidas abrangem morfologia, biologia, taxonomia, morfometria, caracterização bioquímica de populações e testes de precipitina.

Após a publicação da monografia de Lent e Wygodzinsky, em 1979, foram descritas ou revalidadas quinze espécies de triatomíneos, treze das quais tiveram a participação de pesquisadores do Laboratório.

O conhecimento da biologia desses vetores foi significativamente ampliado através de experimentos realizados no Laboratório que geraram a publicação de dezenas de artigos. Desde sua criação o Laboratório produziu mais de 200 trabalhos científicos.

A linha de taxonomia bioquímica, recentemente implantada, possibilitou a revalidação de uma espécie e abrirá novos caminhos para a caracterização de populações. Os teste de precipitina permitem conhecer melhor as fontes alimentares desses insetos.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

O estudo da ecologia e da taxonomia dos dípteros tem sido de extrema importância, como subsídio para as medidas de controle utilizadas largamente pelos órgãos encarregados dessas medidas. As áreas de matas naturais invadidas pelo homem, vêm se tornando uma constante pelas populações carentes denominadas "sem terra", culminando por constituírem comunidades urbanas desordenadas. Com este procedimento a tendência é de cada vez mais surgirem focos endêmicos de doenças que já se consideravam como erradicadas em várias regiões do interior dos estados tais como malária, dengue, leishmaniose, etc.

Coleção Entomológica

A Coleção pretende continuar cumprindo a sua missão principal, que é a de abrigar em seu acervo a memória da fauna entomológica brasileira, e na medida do possível de faunas exóticas.

Em vista das crescentes visitas de escolas e outros visitantes, será criada uma sala de exposição de insetos de interesse médico, como existia no passado.

A Coleção planeja, ainda, aumentar significativamente trabalhos de campo para consecução dos seus projetos de pesquisa, muitos deles ligados a teses de mestrado e doutorado.

O processo de informatização do acervo depositado na Coleção agilizará as informações nele contidas, bem como sua divulgação que, futuramente, poderá ser acessada em rede.

Laboratório de Diptera

A perspectiva é continuar os projetos que estão em andamento, ampliando as áreas de atuação, conforme os convênios que vierem a ser firmados, como o que está em vigência com Furnas Centrais Elétricas SA para o aproveitamento hidrelétrico de Corumbá, no município de Caldas Novas e na Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, no município de Minaçu, ambos no estado de Goiás.

Laboratório de Ixodides

As perspectivas para os próximos anos incluem a formação de mão-de-obra especializada em treinamento; prosseguir com a atividade de ensino em pós-graduação, com identificação e captação de novos estagiários. Intensificar e aumentar os intercâmbios técnicos e científicos com outras instituições; prosseguir com a produção científica nas linhas em desenvolvimento, a conclusão dessas e a abertura de outras linhas. O grupo pretende, principalmente, responder ao pedido da sociedade com identificação e estudos de ácaros, carrapatos, pulgas, piolhos, sanguessugas e pupíparos.

Laboratório de Transmissores de Hematozoários

Com a possibilidade de agregação de novos recursos humanos, além da conquista de um espaço físico maior, o laboratório planeja ampliar o acervo da coleção, além de agilizar os trabalhos de caracterização de amostras visando ao prosseguimento de nossa proposta de estudo e fornecimento de material biológico confiável à comunidade científica. Esse trabalho poderá, em futuro próximo, transformar a atual Coleção de Tripanossomatídeos em um Centro de Referência Nacional e/ou Internacional. O fato de os trabalhos em andamento na Coleção envolverem grande número de organismos, analisados por diferentes abordagens, nos permite detectar ovos marcadores para sua identificação, descrever novas espécies ou gêneros, além de fazer uma ampla revisão da taxonomia e filogenia da família Trypanosomatidae. A partir do ano 2000 programamos incrementar nossas atividades de ensino, oferecendo cursos regulares na pós-graduação do IOC, pois a diversidade do acervo da Coleção pode muito contribuir para a formação de novos parasitologistas.

Pretende-se proseguir na busca de informações sobre a biologia, embriologia, taxonomia e ecologia dos insetos vetores, essencialmente dos mosquitos, e de sua relação com os patógenos por eles transmitidos. Buscar-se-ão informações que forneçam subsídios para o controle das endemias que prejudicam o progresso do país, em particular a saúde do homem do campo. As pesquisas devem, assim, se concentrar nos vetores e agentes etiológicos da malária, das tripanossomíases e dos arbovírus, utilizando-se de métodos avançados de investigações e da capacitação do pessoal fora do âmbito institucional, quando necessário.

Laboratório de Transmissores de Leishmaniose e Oncocercose

Com o credenciamento do Centro de Referência em Simulídeos e Oncocercose, o Laboratório visa auxiliar no conhecimento das espécies vetoras, seus aspectos taxonômicos, bioecológicos, o isolamento de microrganismos patogênicos que possam ser utilizados como agentes supressores das populações de vetores e o desenvolvimento de métodos de diagnóstico essenciais para a descoberta de novos focos, prevenção e monitoramento da doença no Brasil. A identificação dos vetores aliada ao uso de técnicas de diagnóstico sorológico e molecular, a citogenética e PCR dos vetores para fins taxonômicos, acrescido do isolamento de entomopatógenos e o desenvolvimento de métodos de controle de vetores, permitirão um eficiente monitoramento, viabilizando o sucesso do Programa Brasileiro de Oncocercose, uma vez que as ferramentas que fornecem os determinantes convencionais para o diagnóstico e controle não produzem resultados significativos. Auxiliar aos programas do meio ambiente na vigilância e controle do aparecimento e difusão de novas enfermidades, pois na construção de grandes empreendimentos, em regiões até então pouco povoadas, ocorre um grande fluxo migratório e desequilíbrio causado pelas modificações no ambiente.

O estudo das espécies de simulídeos, sua distribuição e o desenvolvimento de métodos biológicos de controle, fornecerá o conhecimento da estrutura bioecológica e epidemiológica de problemas relativos ao desequilíbrio ambiental relacionados com as alterações derivadas das ações antrópicas e indicará métodos de intervenção que minimizem o impacto sobre a população humana ribeirinha, tanto autóctone quanto flutuante. Vale ressaltar que as atividades de intervenção oriundas dessas investigações beneficiarão principalmente as comunidades indígenas, por serem as mais afetadas por doenças vetoradas por simulídeos.

Além de complementar e dar continuidade às pesquisas individuais e àquelas em colaboração, que estão em desenvolvimento, o Núcleo de Morfologia Anatomia Interna e Ultra-estrutura de Artrópodos Vetores, pretende iniciar novos estudos, principalmente no que se refere à imunocitoquímica ultraestrutural e à bioquímica de barbeiros, flebótomos e mosquitos buscando elucidar vários aspectos

morfofuncionais na relação parasito/hospedeiro invertebrado. Com o auxílio de técnicas avançadas de histologia e ultra-estrutura, tem por objetivo desenvolver estudos sobre a embriologia de insetos vetores de patógenos, correlacionando-os com recentes resultados bioquímicos descritos, a fim de localizar *in situ* proteínas e outras importantes substâncias presentes nos insetos.

O Setor de Leishmanioses está apto a colaborar com o Centro Integrado de Referência Nacional em Leishmanioses/Fiocruz/FNS, direcionando a qualificação e experiência de sua equipe para os estudos dos mecanismos de transmissão das leishmanioses e busca de alvos adequados para o controle de vetores e sua relação com o parasito. Continuarão a ser estimulados projetos multidisciplinares de cooperação com instituições nacionais e internacionais que propiciam maior abrangência de conhecimentos. Os estudos sobre entomologia molecular e bioquímica estarão voltados para a taxonomia e a genética de vetores das leishmanioses cobrindo importantes lacunas ainda existentes na ecologia da doença.

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos

Pretende publicar uma revisão atualizada, em português e inglês, do livro *Revision of the Triatominae (Hemiptera-Reduviidae) and their Significance as Vectors of Chagas Disease*, publicado em 1979, com chaves contendo as novas espécies e gêneros. Desenvolver o projeto sobre filogenia dos triatomíneos. Desenvolver projetos sobre dinâmica de populações das principais espécies domiciliadas. Estudar a influência das alterações climáticas no desenvolvimento dos triatomíneos, estudar as espécies crípticas baseados em análises bioquímicas.

DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA
CHEFE: *Elizabeth Ferreira Rangel*

COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA
CHEFE: *Sebastião José de Oliveira*

Jane Margareth Costa	Pesquisador Titular
Maria Conceição Messias	Pesquisador Recém-doutor/CNPq
Paulo Iide	Pesquisador Visitante
Saulo de Jesus Soria Vasco	Pesquisador Visitante/CNPq
Sebastião José de Oliveira	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE DIPTERA
CHEFE: *Rubens Pinto de Mello*

Anthony Érico Guimarães	Pesquisador Titular
Catarina Macedo Lopes	Pesquisador Visitante/FNS
Gustavo Marins de Aguiar	Pesquisador Titular
Maria Luiza Felipe Bauer	Pesquisador Titular
Rubens Pinto de Mello	Pesquisador Titular
Wagner Muniz Medeiros	Pesquisador Visitante/Faperj

LABORATÓRIO DE IXODIDES
CHEFE: *Nicolau Maués da Serra Freire*

Gilberto Salles Gazêta	Assistente de Pesquisa
Nicolau Maués da Serra Freire	Pesquisador Titular
Marinete Amorim	Assistente de Pesquisa

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos
Chefe: *José Jurberg*

Cleber Ferreira Galvão	Assistente de Pesquisa
Dayse da Silva Rocha	Pesquisador Visitante/FNS
Elias Seixas Lorosa	Tecnologista
François Noireau	Pesquisador Visitante/CNPq
Herman Lent	Pesquisador Visitante/FNS
José Jurberg	Pesquisador Titular
Regina Esteves de Andrade	Pesquisador Visitante/FNS
Rodolfo Carcavallo	Pesquisador Visitante/CNPq

Laboratório de Transmissores de Hematozoários
Chefe: *Ricardo Lourenço de Oliveira*

Denise Valle	Pesquisador Associado
Marcia Gonçalves de Castro	Pesquisador Adjunto
Maria Auxiliadora de Sousa	Pesquisador Titular
Mariângela Ziccardi de C. Barcellos	Pesquisador Adjunto
Monique de Albuquerque Motta	Assistente de Pesquisa
Ricardo Lourenço de Oliveira	Pesquisador Titular
Teresa Fernandes S. do Nascimento	Assistente de Pesquisa

Laboratório de Transmissores de Leishmaniose e Oncocercose
Chefe: *Elizabeth Ferreira Rangel*

Alfredo Carlos R. de Azevedo	Pesquisador Visitante/Faperj
Antônio Paulino A. de Luna Dias	Pesquisador Titular
Carlos Alberto V. Freitas	Assitente de Pesquisa
Carlos Coutinho	Pesquisador Visitante/Sucen
Claudia A. Andrade-Coelho	Pesquisador Visitante/Faperj
Dyrce Lacombe de Almeida	Pesquisador Titular
Elizabeth Ferreira Rangel	Pesquisador Titular
Jacenir Reis dos Santos Mallet	Pesquisador Associado
Magaly Dolsan de Almeida	Tecnologista
Marilza Maia Herzog	Pesquisador Titular
Mauricio Luiz Vilela	Pesquisador Adjunto
Nataly Araújo de Souza	Pesquisador Associado
Regina Helena dos Santos C. Brito	Pesquisador Visitante/Faperj
Teresa Cristina Monte Gonçalves	Pesquisador Titular
Zélia Pimentel Andrade Ferro	Pesquisador Titular

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACODINÂMICA

HISTÓRICO

A Divisão de Fisiologia e Farmacodinâmica teve seus primórdios em 1919, quando Carlos Chagas, então diretor do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), convidou Miguel Ozório de Almeida para organizar o primeiro Laboratório de Fisiologia Experimental em uma instituição oficial. Foi desse Laboratório precursor que se originou a fisiologia brasileira. A permanência de Miguel Ozório nessa primeira etapa foi relativamente curta, ficando no Instituto somente até 1921.

Em 1927, foi efetivamente criada a Seção de Fisiologia, quando foram contratados, novamente por intermediação de Carlos Chagas, Ozório de Almeida, como chefe de serviço, Carneiro Felipe, Antônio Augusto Xavier e, temporariamente, dois pesquisadores franceses, o Prof. Lapicque e sua esposa. Thales Martins, pioneiro da endocrinologia experimental no Brasil, já estava no Instituto desde 1923 e passou a formar parte da Seção de Fisiologia. Segundo Ozório de Almeida, as pesquisas naquela época versaram sobre a fisiologia geral do sistema nervoso e do músculo, a regulação da respiração, a fisiologia dos capilares e a ação oligodinâmica.

A partir de 1934, Haity Moussatché, Mario Vianna Dias, Tito Cavalcanti e Fernando Ubatuba ingressaram na Divisão, contribuindo para a formação de um grande número de professores e pesquisadores no campo da fisiologia/farmacologia experimental em nosso país.

Vale ressaltar os experimentos desenvolvidos por Moussatché abrangendo o estudo dos mediadores químicos da transmissão de impulsos nervosos através da técnica denominada crioepilepsia; as pesquisas com produtos naturais provenientes de plantas e animais marinhos; o estudo dos choques produzidos por soro antiplaqueta, peptônico e anafilático, e investigações sobre as ações farmacológicas da crotamina e da crotoxina.

Nas várias fases desse período, que prosseguiu até o final de 1969, participaram ativamente das atividades do Departamento: Tito Cavalcanti, Aída Hasson Volloch, Annie Prouvost-Danon, Nelson Vaz, Junia Peixoto, Ivan Caldas Marins, Elisaldo Carlini, Marize Jurberg, Renato Cordeiro, José Lopez Quadra, Otavio Aprigliani, Paulo Ramos, José Moura Gonçalves, Sonia Salmeron, Fernando Ubatuba, Mario Vianna Dias, Maria Queiroz, Reinaldo Magalhães, Benjamin Gilbert, Herman Lent, Augusto Perissé, Nuno Álvares Pereira, dentre outros.

Em 1970, Moussatché, Cavalcanti e Ubatuba tiveram seus direitos políticos cassados e foram, compulsoriamente, aposentados pelo governo, o que levou a um encerramento dramático das atividades científicas da Divisão de Fisiologia e Farmacodinâmica. "O grupo que trabalhava em Manguinhos dispersou-se. Mas ao fazê-lo, cada um de seus membros levou consigo uma sistemática e um ideal de trabalho que renasceram em outros lugares, como no Rio de Janeiro, em São Paulo, em Belo Horizonte, em Ribeirão Preto, em Brasília, no Ceará e na França" [L. G. Labouriau (1990) – 80 anos de Haity Moussatché].

O atual Departamento foi recriado em 1986, na administração Sérgio Arouca, que promoveu a reintegração, na Fundação Oswaldo Cruz, de Tito Cavalcanti e de Haity Moussatché, este que, desde o início da década de 70, trabalhava na Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado", em Barquisimeto, Venezuela. Complementando esse grupo, e com apoio da Finep, foi contratado um dos antigos colaboradores de Moussatché, Renato Cordeiro, que transferiu-se para o IOC com seu grupo de jovens e produtivos farmacólogos, implantando uma sólida equipe de estudo do processo inflamatório e de produtos naturais: Marco Aurélio Martins, Patricia Machado Rodrigues e Silva, Maria da Graças Müller Oliveira Henriques, Marcia Coronha, Cláudia Zuany Amorim, Hugo Caire de Castro Faria Neto, Patricia Torres Bozza, dentre outros.

Logo a seguir, Jonas Perales, colaborador de Moussatché na Universidad Centro Occidental, onde iniciaram estudos envolvendo venenos de serpentes e a capacidade do *Didelphis marsupialis* de resistir aos efeitos deletérios produzidos por esses venenos, transferiu-se para o Departamento.

A vinda de Otto Richard Gottlieb, da USP, em 1991, e a de Eduardo Vera Tibiriçá, em 1992, de Strasbourg, na França, completam o atual grupo de pesquisa do Departamento neste fim de século.

Nesses treze anos, o Departamento tem sido procurado por estagiários, graduados e pós-graduados, que objetivam desenvolver pesquisas no campo da farmacologia e da fisiologia. O grupo é internacionalmente reconhecido por desenvolver recursos humanos de alta qualificação na área da farmacologia.

Durante esse período, os laboratórios do Departamento estabeleceram as seguintes colaborações científicas nacionais e internacionais:

Unité de Pharmacologie Cellulaire, Institut Pasteur, França

Unité de Venins, Institut Pasteur, França

Department of Applied Pharmacology, Imperial College of Medicine, Grã-Bretanha

National Heart and Lung Institute, Grã-Bretanha

Institute of Materia Medica, Shanghai, China

Universidad Centro Ocidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela

Huntsman Cancer Institute, University of Utah, EUA

Department of Medicine, Allergy and Inflammation Division, Beth Israel Deaconess Medical, EUA

Infectious Diseases Division Center, Harvard Medical School, EUA

Department of Zoology, University of Tel Aviv, Israel

Instituto Clodomiro Picado, Costa Rica

Health Sciences Center, University of Virginia, EUA

Departamento de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela

Laboratoire de Pharmacologie Neuro-cardiovasculaire, Faculté de Medicine, Université Louis Pasteur, Strasbourg, França

Laboratoire de Pharmacodinamie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Rennes, França

Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, USP, Brasil

Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, Brasil

Instituto de Química, USP, Brasil

Instituto de Química, Universidade de Campinas, Brasil

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Brasil

Instituto de Microbiologia, UFRJ, Brasil

Vários eventos nacionais e internacionais foram organizados pelos pesquisadores do Departamento:

Colloque Franco-Brésilien sur la Chimie et la Pharmacologie des Substances Naturelles en Inflammation, Allergie et Thrombose (1986)

1ª e 2ª Reuniões do Clube do PAF (1987 e 1988)

Ist Brazilian Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products (1989)

Lipid Mediator and Cytokine Interactions in Inflammation – Satellite meeting post-fourth International Congress on Platelet – Activating Factor and Related Lipid Mediators (1992)

International Symposium on Eosinophils in Allergic Inflammation and Parasitic and Infectious Diseases (1996)

5º Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia (1998)

1º Congresso da Sociedade Brasileira de Hipertensão do Estado do Rio de Janeiro-Soherj (1999)

Reuniões Anuais da Resem (revolução, sistemática e ecologia micromoleculares).

Laboratório de Farmacologia Neuro-cardiovascular

Em janeiro de 1992, Eduardo Tibiriçá foi convidado para organizar e dirigir um laboratório de fisiofarmacologia cardiovascular.

É importante ressaltar que as doenças cardiovasculares representam um dos maiores problemas de saúde pública, não só nos países do primeiro mundo mas também nos países em desenvolvimento. De fato, as afecções cardiovasculares, representadas principalmente pela hipertensão arterial e pela cardiopatia isquêmica, são responsáveis por uma alta incidência de mortalidade. No Brasil, a situação é semelhante e, aproximadamente, 30% da mortalidade geral são atribuídos a doenças cardiovasculares. De acordo com os dados epidemiológicos fornecidos pelo Sistema Único de Saúde (Rede Interagencial de Informações para a Saúde, Ripsa, 1996), 32% dos óbitos de ambos os sexos e de todas as faixas etárias no Brasil se devem às doenças cardiovasculares.

O Laboratório pôde então iniciar, ainda em 1992, trabalhos de pesquisa envolvendo fármacos com potencial utilização no tratamento da hipertensão arterial sistêmica e da cardiopatia isquêmica. A colaboração internacional com a França propiciou uma importante interação entre as pesquisas básica e clínica, já que os trabalhos em modelos experimentais de cardiopatia isquêmica no Laboratório estão sen-

do realizados em paralelo com os estudos clínicos dirigidos pelo Prof. Bousquet, na França, em pacientes coronariopatas.

Além dos trabalhos desenvolvidos em colaboração com o laboratório francês, foram instituídas novas linhas de pesquisa totalmente originais, algumas delas em colaboração com pesquisadores de outros laboratórios do Departamento e mesmo de outras instituições de pesquisa brasileiras.

Durante o processo de credenciamento dos laboratórios do IOC, em 1994, o Laboratório foi classificado como "Núcleo de Pesquisas", fato que impulsionou o seu crescimento e facilitou a captação de recursos para a pesquisa, tanto externos quanto dentro da própria Fiocruz.

Em 1996, foi recebido no Laboratório, como pesquisador visitante (CNPq), Homero Nogueira Guimarães, com doutorado de ciências no campo do processamento de sinais biomédicos aplicados ao estudo de medicamentos utilizados em patologia cardiovascular. Guimarães teve papel essencial na instalação, no Laboratório, de sistemas informatizados de avaliação funcional do sistema nervoso autônomo que estão sendo utilizados no processamento de sinais cardiovasculares para a avaliação da eficácia de fármacos cardioprotetores em modelos experimentais de cardiopatia isquêmica. Em 1998 foi possível iniciar trabalhos de pesquisa sobre a fisio-farmacologia da microcirculação, graças à vinda para o Laboratório de outro pesquisador visitante (Faperj), Alberto Gonzalez. O estudo direto da microcirculação, incluindo os vasos linfáticos, através de microscopia intravital, é imprescindível no desenvolvimento de fármacos cardiovasculares, especialmente daqueles utilizados no tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

O ano de 1999 se caracterizou pelo estabelecimento de novas colaborações intra-institucionais como, por exemplo, com o Laboratório de Química de Produtos Naturais (PN3) de Farmanguinhos. Esta colaboração tem como principal objetivo proporcionar o desenvolvimento de novos fármacos e/ou fitoterápicos cardiovasculares, com ênfase especial no tratamento da hipertensão arterial, a partir de extratos brutos ou purificados obtidos de plantas brasileiras.

Além disso, o Laboratório continuará privilegiando a formação de recursos humanos em pós-graduação (mestres e doutores), assim como incentivando a formação científica de graduandos de diversas áreas das ciências biológicas (programa instituicional de iniciação científica).

Laboratório de Imunofarmacologia

O Núcleo de Imunofarmacologia surgiu no ano de 1994 durante a época do credenciamento dos laboratórios do IOC. Este Núcleo foi criado como um desmembramento natural do Laboratório de Inflamação que, naquela época, contava com um total de sete doutores além de mestres e alunos de graduação e pós-graduação. Esse desmembramento ocorreu em função do surgimento e amadurecimento natural de novas lideranças científicas dentro do grupo de pesquisadores do Laboratório de Inflamação. Essas novas lideranças possuiam linhas independentes de trabalho, financiamento próprio e grupo de estudantes diferenciados, justificando plenamente a criação desse novo Laboratório no Departamento. Desta forma, foi proposta a criação de um novo laboratório, o de Imunofarmacologia, que acabou recebendo a recomendação da comissão de credenciamento para ser classificado como "Núcleo de Pesquisa".

Naquele momento, Maria das Graças M. O. Henriques ficou como responsável pelo núcleo recém-criado, que era ainda composto por Hugo Caire de Castro Faria Neto, Patrícia Torres Bozza e por diversos alunos de pós-graduação em nível de doutorado e mestrado, alunos de aperfeiçoamento e de iniciação científica. Em julho de 1995, Maria das Graças foi convidada a formar o Laboratório de Farmacologia Aplicada do Centro de Pesquisa em Produtos Naturais em Farmanguinhos, para onde se transferiu com parte da equipe do Núcleo de Imunofarmacologia. Naquele momento Hugo retornava de seu período de pós-doutorado assumindo a chefia. Um grande reforço para consolidação do Núcleo aconteceu com o retorno de Patrícia T. Bozza do seu pós-doutorado, em janeiro de 1997. As novas metodologias e técnicas adquiridas e o crescimento no número de alunos de graduação e pós-graduação justificaram o aumento do espaço físico do Núcleo ao qual foram incorporadas mais uma área onde está sendo montado um laboratório de técnicas de biologia molecular e uma pequena sala que está sendo transformada em câmara escura.

Em decorrência da qualificação da equipe de pesquisadores, com linhas independentes de pesquisa, capacidade de obtenção de financiamento e alta produtividade científica, o Núcleo foi transformado em Laboratório após a avaliação e o recredenciamento ocorridos em 1998.

Desde sua criação, o Núcleo contou com recursos financeiros aprovados junto a agências financiadoras, como o CNPq, Papes, Faperj e PEW. O Laboratório mantém colaborações científicas ativas com todos os laboratórios pertencentes ao Departamento, além de colaborações com outros laboratórios de diversas unidades da Fiocruz. O Laboratório estabeleceu também colaborações com instituições em nível nacional e internacional. Nos cinco anos de existência, o Laboratório vem apresentando

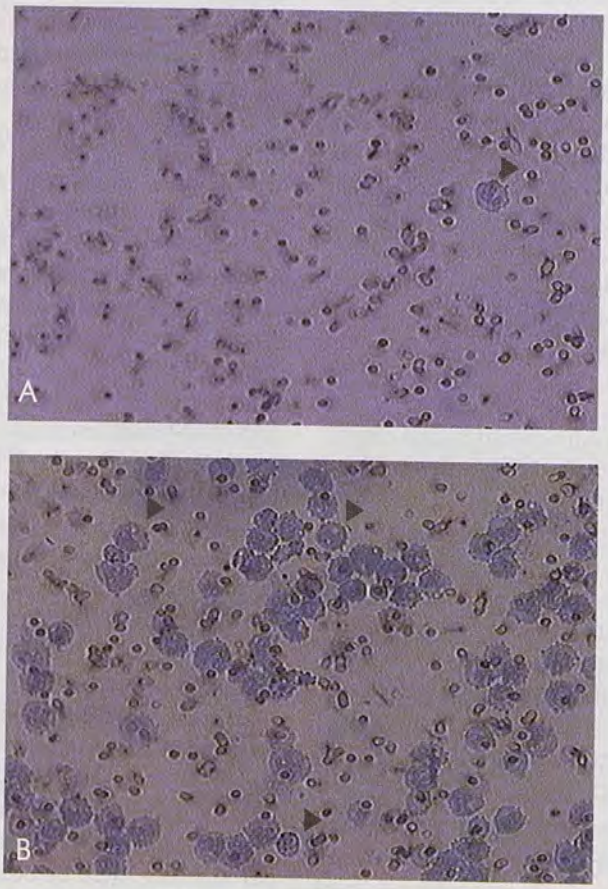
uma produtividade crescente na formação de recursos humanos e na geração de conhecimento científico traduzido na publicação de 38 artigos científicos em revistas indexadas.

O Laboratório tem por vocação o estudo dos mecanismos fisiopatológicos em nível celular e molecular de patologias de origem infecciosa, alérgica ou degenerativa visando à melhor compreensão dessas e à identificação de novos alvos terapêuticos, bem como ao desenvolvimento de substâncias farmacologicamente eficazes no tratamento dessas patologias.

Laboratório de Inflamação

O Laboratório foi formado em 1986. Renato Cordeiro coordenou o projeto inicial que estava voltado para o estudo dos mecanismos básicos em inflamação, tendo como grupo de apoio Marco Aurélio Martins, Patrícia Machado Rodrigues e Silva, Maria das Graças de Oliveira Henriques, Marcia Coronha Ramos Lima e Claudia Zuany Amorim e Jorge Silvano e Hermenegildo N. da Cruz como apoio técnico.

A abordagem científica do grupo incluiu modelos de inflamação *in vivo* além de técnicas e sistemas de análise *ex vivo* e *in vitro*, voltados para o entendimento do processo inflamatório agudo e elucidação do modo de ação de drogas antiinflamatórias e antialérgicas. O programa original contou com suporte financeiro tanto da Fiocruz como da Finep. Desde então, o Laboratório vem mantendo-se produtivo, com reconhecida capacidade nacional e internacional na formação de pessoal de excelência nas áreas técnica e científica. Foram desenvolvidas até aqui doze teses de doutorado, seis de mestrados, nove monografias de graduação, além de mais de oitenta publicações em revistas indexadas.



Quimiotaxia de linfócitos transfectados com receptor CCR-3, após estimulação *in vitro* com 10 nM de eotaxina (B) ou veículo (A). As setas indicam as células migradas através dos poros no filtro de policarbonato.

O Laboratório conta com infra-estrutura técnica voltada sobretudo para estudos relacionados à farmacologia do processo inflamatório e alérgico. Através de ensaios biológicos, fluorimétricos, radioenzimáticos e ELISA são feitas análises quantitativas de mediadores inflamatórios importantes incluindo histamina, derivados lipídicos do ácido araquidônico, citocinas e quimiocinas. O grupo desenvolve ainda estudos relacionados à ativação de leucócitos, cultura de células, quimiotaxia, quimiocinesia, contração anafilática de músculo liso e hiperalgesia.

Laboratório de Produtos Naturais

Em 1990, Otto Richard Gottlieb aceitou a incumbência de criar e chefiar um laboratório de produtos naturais, com a finalidade de isolar princípios bioativos de plantas brasileiras para testes farmacológicos a serem efetuados em outros laboratórios do IOC.

Posteriormente, notando-se a necessidade de mapear a vegetação brasileira pertinente e de se racionalizar as práticas etnofarmacológicas, dividiu-se o trabalho de produtos naturais em dois núcleos. Um especificamente engajado com o isolamento e determinação estrutural de produtos naturais e outro tratando de química biologia quantitativa.

Efetivamente, só no final de 1994 a etapa de montagem do Laboratório foi concluída nas dependências de Farmanguinhos, onde se encontra até hoje. Iniciamos nossas atividades utilizando as informações quimiossistemáticas na escolha do material vegetal a ser trabalhado. As famílias Clusiaceae, Marcgraviaceae e Plumbaginaceae foram alvos das primeiras investigações na área de química. Outras famílias foram incorporadas em nossas investigações ao longo desses anos: Asteraceae, Bromeliaceae, Alismataceae e Lauraceae. Todas essas famílias mostraram ser bioativas frente a vários ensaios farmacológicos.

Atualmente contamos com a colaboração de alunos de doutorado, mestrado, iniciação científica e duas pesquisadoras tercerizadas por Farmanguinhos.

Nosso trabalho em produtos naturais é dinâmico na procura de novas fontes bioativas, estando sempre voltado para a busca de plantas com atividade biológica para atender às mais variadas enfermidades que afligem a humanidade.

A produção científica do Laboratório no período de 1997-1999 constou de 38 conferências, 37 comunicações e 27 publicações.

Laboratório de Toxinologia

A criação do Laboratório data de meados de 1985, quando Moussatché recebeu convite para organizar novamente a antiga Divisão de Fisiologia, agora denominada Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica. Nessa nova fase o Departamento estava formado pelos laboratórios de Inflamação e Toxinologia. O retorno definitivo de Moussatché ao Brasil deu-se em 1987, vindo com ele Jonas Perales, seu colaborador na Venezuela. Os dois pesquisadores coordenaram a instalação do Laboratório de Toxinologia.

Inicialmente, o Laboratório orientou-se sobre o fenômeno da resistência de certos animais aos venenos de serpentes, linha de pesquisa que estava sendo desenvolvida na Venezuela, e sobre a crioepilepsia, modelo de convulsões experimentais, que já tinha sido estudado por Miguel Ozório de Almeida e que permitia desenvolver estudos farmacológicos de drogas com ação no sistema nervoso central (medula espinhal).

No ano 1994, o Laboratório foi credenciado, num processo que envolveu a câmara de pesquisa do IOC assessorada por consultores *ad hoc* e, mais recentemente, no ano de 1998, o credenciamento foi ratificado num processo similar.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Farmacologia Neurocardiovascular

Fisio-farmacologia do sistema cardiovascular – Nesta linha de pesquisa objetivamos investigar mecanismos neurais e, em paralelo, mecanismos periféricos envolvidos no desenvolvimento de hipertensão arterial e da angina de peito (cardiopatia isquêmica). Para atingir o objetivo utilizamos, além das medidas hemodinâmicas completas dos animais, as técnicas de cirurgia estereotáxica e de injeções intracerebrais de fármacos. Um enfoque especial é dado ao envolvimento da hiperatividade do sistema nervoso simpático central na gênese dessas patologias.

Modelo experimental para o estudo do controle central do sistema cardiovascular

Estão em desenvolvimento pré-clínico, no Laboratório, substâncias que poderão ser utilizadas no tratamento integral de pacientes que são ao mesmo tempo hipertensos e anginosos, com um mecanismo de ação original, ou seja, um efeito modulatório sobre a regulação central do sistema cardiovascular. Resultados bastante promissores foram obtidos com drogas simpatomoduladoras de ação central, tais como a clonidina e a rilmenidina. Desse modo, num modelo experimental que associa hiperatividade simpática central com isquemia do miocárdio, foi possível detectar uma redução drástica da mortalidade por infarto do miocárdio e das arritmias cardíacas nos grupos de animais tratados com as drogas citadas, tanto por via sistêmica quanto central. Portanto, essas substâncias poderiam ser propostas no tratamento de pacientes isquêmicos, portadores de angina de peito estável, como medicamentos cardioprotetores de ação central.

Com relação aos mecanismos periféricos, estudamos o papel de mediadores endoteliais vasoativos, e especialmente do PAF (*Platelet-Activating Factor*) e do óxido nítrico, na regulação local do tônus vascular e da pressão arterial. Para tanto, estamos utilizando experimentos *in vitro* com artérias isoladas a partir de leitos vasculares de condutância e de resistência, assim como o modelo experimental do rim isolado e perfundido de coelho. Esses estudos mostraram que em situações de vasoconstrição intensa há liberação de PAF, que por sua vez induziria a produção/liberação de prostaglandinas vasodilatadoras, atuando então como um mecanismo de retrocontrole negativo, que teria como função modular o tônus vascular em situações fisiológicas.

Farmacologia de produtos naturais – Esta linha de pesquisa é realizada em cooperação com laboratórios de fitoquímica tanto da Fiocruz quanto de outras instituições de pesquisa.

Nos projetos em andamento, estamos avaliando as propriedades farmacológicas de substâncias naturais extraídas de plantas brasileiras (lignóides) com atividade antagonista de mediadores endógenos, especialmente de mediadores lipídicos (PAF). A utilização dessas substâncias no manejo das alterações cardiovasculares observadas durante os choques anafilático e séptico está sendo investigada em diversos modelos experimentais.

Um projeto recente do Laboratório estuda os efeitos anti-hipertensores de extratos de plantas do gênero *Echinodorus*, família Alismataceae. Estes extratos apresentam potente atividade vasodilatadora, tanto *in vitro* quanto em diversos modelos experimentais de hipertensão arterial. Portanto, são candidatos à elaboração de fitoterápicos que poderiam ser utilizados no tratamento da hipertensão arterial essencial.

Dentro de uma colaboração com o Departamento de Farmacologia da Unicamp, estudamos a fisiopatologia das manifestações cardiovasculares induzidas pelo envenenamento por aranhas armadeiras (*Phoneutria nigriventer*) que são responsáveis pela maioria dos acidentes com aracnídeos no Brasil.

Estudo da microcirculação mesenterial de ratos através da microscopia intravital – Neste campo interessante, e bastante novo da pesquisa biológica, estamos procedendo à análise da densidade funcional capilar, da atividade vasomotora linfática e das interações leucócito/endotélio. Essa tecnologia, que foi implementada no Laboratório recentemente, está sendo utilizada em estudos fisio-farmacológicos e na terapia dos choques séptico e hemorrágico ao nível da microcirculação.

Nos últimos anos, vem-se tornando evidente a necessidade de se estudar os efeitos dos medicamentos cardiovasculares ao nível da microcirculação, pois ela comporta a maior parte da volemia; portanto, alterações nesse território têm repercussões sistêmicas importantes. É útil lembrar que os fenômenos microcirculatórios em esfíncteres capilares, em nível de endotélio e decorrentes da interação leucócito/endotélio, determinam a liberação sistêmica de potentes mediadores endógenos envolvidos na regulação do sistema cardiovascular.

Resultados recentes do Laboratório mostraram que existe uma importante diferença entre o comportamento dos vasos linfáticos de animais normotensos e espontaneamente hipertensos (hipertensão genética) após indução de edema sistêmico, sugerindo que a drenagem linfática estaria comprometida na hipertensão arterial essencial ou primária.

Laboratório de Imunofarmacologia

Mecanismos fisiopatológicos e novas perspectivas terapêuticas nas endotoxemias e síndromes sépticas – Nesta linha visamos à compreensão da resposta do organismo frente à estimulação por bactérias, seus componentes e/ou toxinas. Especial ênfase tem a regulação neuroimunoendócrina da geração de citocinas e outros mediadores inflamatórios. Projetos estão em andamento utilizando desde modelos *in vitro*, passando pela experimentação animal, até estudos clínicos em colaboração com unidades de terapia intensiva do Rio de Janeiro.

Metabolismo e função biológica de mediadores lipídicos e suas implicações em reações de origem infecciosa, alérgica ou degenerativa – Nesta linha objetivamos entender as vias de formação e metabolismo de lipídios bem como suas atividades biológicas relacionadas com a patogênese de doenças de fundo inflamatório/degenerativas tais como sepse, asma e ateroesclerose. O foco principal tem recaido sobre o papel de corpúsculos lipídicos na geração de eicosanoides e na função fisiopatológica de PAF e fosfolipídios produzidos por processos oxidativos.

Desenvolvimento de substâncias de origem natural com atividade analgésica, antiinflamatória e/ou imunomoduladora – Através de colaborações com grupos de fitoquimica visamos, nesta linha, à identificação e purificação de novas substâncias com atividade analgésica, antiinflamatória e/ou imunomoduladora, bem como o esclarecimento dos seus mecanismos farmacológicos de ação. Devemos ressaltar que esta linha de pesquisa se encontra em estreita relação com as duas linhas de pesquisa mencionadas anteriormente, uma vez que as substâncias identificadas podem ter um potencial terapêutico nas patologias mencionadas acima; de forma reciproca o conhecimento do mecanismo fisiopatológico pode apontar novos alvos para o desenvolvimento de drogas.

Laboratório de Inflamação

As pesquisas do Laboratório concentram-se no campo das alterações vasculares e celulares associadas com a resposta inflamatória e com a alergia. Um dos projetos prioritários está relacionado ao mecanismo de recrutamento de eosinófilos e ao papel imunobiológico do eosinófilo na alergia e na parasitose. O conceito emergente de que os eosinófilos atuam como um dos principais efetores celulares das lesões fisiopatológicas identificadas no quadro asmático gerou enorme interesse no en-

tendimento dos mecanismos associados ao recrutamento, retenção e função dessas células no contexto da resposta inflamatória alérgica. Alguns produtos de eosinófilos são reconhecidamente capazes de causar danos irreversíveis a parasitas metazoários, principalmente formas larvais. Há, portanto, bases racionais para acreditar-se que o eosinófilo pode também atuar como uma célula de defesa do hospedeiro frente à invasão parasitária. Por outro lado, os eosinófilos podem secretar mediadores inflamatórios e substâncias tóxicas capazes de produzir lesões importantes no próprio organismo hospedeiro. Tanto na infecção parasitária como na inflamação alérgica, os eosinófilos aparecem em número aumentado na corrente sangüínea e no foco da lesão tecidual. Sabe-se, atualmente, que o recrutamento seletivo de eosinófilos e outros leucócitos para o foco inflamatório é coordenado por uma família de citocinas quimiotáticas denominadas quimiocinas. Eotaxina e outras quimiocinas são alvos óbvios e relevantes no controle terapêutico de doenças alérgicas como a asma.

Controle do recrutamento e ativação de eosinófilos por agentes capazes de elevar os níveis intracelulares de nucleotídeos cíclicos – O projeto visa desenvolver modelos *in vivo* e *in vitro* de sistemas voltados para o estudo dos mecanismos chave na ativação e recrutamento de eosinófilos na alergia e na parasitose e seu controle farmacológico. Particularmente investiga-se o efeito de drogas capazes de elevar os níveis intracelulares de AMP cíclico, incluindo os inibidores seletivos das isoenzimas fosfodiesterease e agentes beta 2 adrenérgicos.

O controle terapêutico de disfunções alérgicas crônicas, como a asma brônquica, por exemplo, é um tema de extrema importância clínica. Drogas responsáveis pelo aumento na concentração de AMPc intracelular têm recebido particular atenção em função de seus efeitos supressores sobre o recrutamento e a ativação celular no sítio inflamatório. Fosfodiesterases compõem uma família de isoenzimas intracelulares responsáveis pela metabolização e conseqüente inativação de nucleotídios cíclicos, sendo distinguidas de acordo com a especificidade pelo substrato e inibidores específicos. Dentro deste contexto, inibidores seletivos da fosfodiesterase tipo IV têm sido reconhecidos como uma alternativa terapêutica bastante promissora para o tratamento da asma, embora seu modo de ação não esteja completamente esclarecido. Utilizando modelos experimentais, pesquisadores desenvolvem estudos com inibidores de diferentes subtipos de fosfodiesterase. Os achados demonstram a eficácia de inibidores de tipo IV bem como de ativadores de adenilato ciclase (agentes β-adrenérgicos) no bloqueio do recrutamento e da ativação de eosinófilos. A influência desses tratamentos sobre a geração de quimiocinas e diferentes funções eosinofílicas, incluindo locomoção e secreção de fatores pró-inflamatórios e tóxicos, são objetos de investigação.

Papel de quimiocinas na resposta de defesa do hospedeiro frente à infecção por Angiostrongylus costaricensis – O projeto tem por objetivo principal desenvolver modelos da infecção pelo *A. costaricensis*, em ratos e camundongos, visando identificar mecanismos chave na resposta de defesa do hospedeiro, envolvimento de quimiocinas, intercorrências com fenômenos alérgicos e o controle farmacológico da infecção. A infecção pelo helminto *A. costaricensis* é endêmica em regiões das Américas Central e do Sul, incluindo o Rio Grande do Sul. A doença é marcada por intensa resposta inflamatória eosinofílica crônica sobretudo no trato intestinal.

Estudo do acúmulo eosinofílico na cavidade pleural de ratos após estimulação com PAF – O projeto estuda o mecanismo de eosinofilia avaliando a participação de quimiocinas, particularmente eotaxina, nos fenômenos de quimiotaxia e proliferação de eosinófilos. Acumulamos evidencias, por exemplo, de que a proliferação local de eosinófilos pode ser importante para o acúmulo tardio destas células no foco do processo inflamatório alérgico. Detectamos um fator de proliferação de eosinófilos gerado na inflamação por PAF atualmente em fase adiantada de identificação. Um anticorpo monoclonal foi desenvolvido contra o princípio ativo, o que tem ajudado na caracterização do fator e de sua relevância fisiopatológica. Por outro lado, há também evidências de que a quimiocina eotaxina detectada no efluente inflamatório eosinofílico é capaz de provocar proliferação de eosinófilos em cultura líquida de células de medula. O estudo de um potencial mecanismo de interação entre imunoglobulinas e quimiocinas bem como o papel da proliferação local de eosinófilos são prioridades.

Papel do mecanismo IgE-mastócito no recrutamento de células inflamatórias – O projeto visa investigar a contribuição do mecanismo IgE-mastócito para o desenvolvimento da resposta inflamatória alérgica tardia, particularmente no tocante ao recrutamento de eosinófilos. Embora esteja bem estabelecida a importância do mecanismo IgE-mastócito na reação de hipersensibilidade imediata, marcada pela resposta vascular e contração de músculo liso, permanece pouco entendido seu papel na chamada fase tardia da resposta alérgica, sobretudo no infiltrado

de células inflamatórias. Tendo por base o perfil da resposta de exsudação plasmática e celular causada por estímulo alergênico na cavidade pleural e na pele de ratos ativamente sensibilizados, temos investigado a importância relativa dos mastócitos e seus produtos na patogênese da alergia. O trabalho envolve ainda uma cuidadosa análise comparativa com modelos onde animais ativamente sensibilizados são estimulados com anticorpo monoclonal anti IgE, ou em condições onde uma sensibilização exclusivamente dependente de IgE específica é feita por transferência passiva da imunoglobulina. Nessas condições obtêm-se uma resposta de exsudação plasmática comparável àquela da ativa, enquanto o infiltrado celular mostra-se muito menos intenso e populacionalmente distinto. Essa abordagem, que traz também um tratamento histopatológico aprofundado, incluindo confocal, tem permitido obter informações claras acerca da contribuição do mecanismo IgE para o recrutamento de leucócitos para o foco da resposta inflamatória alérgica. Um outro aspecto dessa pesquisa está relacionado ao fenômeno de repopulação mastocitária. Os mastócitos destacam-se como células alvo da estimulação alergênica. Segundos após a exposição ao alergeno há uma degranulação maciça dos mastócitos sensibilizados, levando à liberação de mediadores inflamatórios pré-formados e neo-sintetizados. Muito pouco é conhecido acerca do processo de repopulação mastocitária e das implicações desse fenômeno sobre a reatividade alérgica. O Laboratório desenvolve o estudo em parceria com os departamento de Ultra-estrutura Celular e de Patologia visando um melhor entendimento do processo de regranulação e repopulação de mastócitos. Marcadores especificos de mastócitos jovens estão sendo empregados para fazer-se o acompanhamento da evolução do processo de repopulação e regranulação. O perfil fenotípico dos subtipos de mastócitos (seroso/mucoso) será também mapeado através de técnicas cito e histopatológicas. Esse trabalho pode elucidar aspectos importantes da biologia dos mastócitos e do envolvimento dessas células no fenômeno alérgico.

Estudo da hiporresponsividade inflamatória associada ao quadro de diabetes experimental em ratos – O projeto visa investigar os mecanismos básicos associados à mútua exclusão observada entre a ocorrência de alergia e diabetes. Estudos do Laboratório confirmam que o estado diabético experimental induzido por aloxana e estreptozotocina em ratos é marcado por importante redução da população mastocitária e de sua reatividade à estimulação alergênica. A hipótese de trabalho é que o mastócito tem papel importante no quadro de hiporresponsividade inflamatória exibido pelo quadro diabético, provavelmente por comprometimento dos mecanismos de transdução de sinal e sobrevida.

Ação antiinflamatória e antialérgica da lidocaína e análogos – O projeto avalia a eficácia da ação anestésica local da lidocaína e isômeros, em comparação com a potencial eficácia desses compostos no controle da alergia. O estudo testa a hipótese de que a lidocaína exerce atividade antiinflamatória e antialérgica independentemente de sua reconhecida atividade anestésica local. O Laboratório tem estudo avançado investigando as propriedades analgésicas, antiinflamatórias e antialérgicas de alguns isômeros originais do anestésico local lidocaína. Os dados obtidos sugerem, fortemente, que modificações específicas na estrutura da lidocaína podem levar à substância de menor atividade anestésica mas com acentuada atividade anti-anafilática e estabilizadora de eosinófilos.

Atividade antiinflamatória e analgésica extraídas de folhas de plantas do gênero Vernonia – O projeto visa identificar o mecanismo de ação de princípios bioativos presentes em extratos brutos e semipurificados da planta *V. condensata* Baker, bem como estabelecer condições técnicas para a utilização desses extratos como fitoterápicos no tratamento da disfunção inflamatória e alérgica. O suco e o chá obtidos, a partir das folhas de *V. condensata*, planta pertencente à família Asteraceae, são utilizados na medicina alternativa brasileira para o tratamento de distúrbios estomacais e hepáticos. Estudos recentes indicam a presença de atividade analgésica no extrato aquoso bruto das folhas de *V. condensata* e na fração polar obtida deste extrato. Tanto o extrato bruto quanto a fração polar são desprovidos de atividade lesiva sobre a mucosa intestinal, potenciam a analgesia obtida com aspirina e indometacina e são capazes de inibir a formação de lesões intestinais induzidas por estes analgésicos. As prioridades são: 1) avaliar as possíveis interferências da sazonalidade sobre as propriedades analgésica e anti-inflamatória detectadas no extrato bruto; 2) caracterizar, quimicamente, os extratos obtidos de *V. condensata* e estabelecer a identidade química do(s) princípio(s) ativo(s); 3) estabelecer parâmetros básicos para realização do cultivo monitorado de *V. condensata*.

Estudo da dor inflamatória de origem alérgica – O projeto visa investigar os mecanismos chave associados à hiperalgesia de origem alérgica com ênfase no papel de mediadores químicos inflamatórios e na regulação farmacológica. Apesar de muitos dos mediadores químicos associados à anafilaxia também serem implicados em fenômenos de dor

infamatória, poucos estudos até aqui abordaram os fenômenos de dor e hiperalgesia no contexto da alergia. Nossos achados indicam que o edema e a hiperalgesia na resposta de hipersensibiliade imediata são fenômenos paralelos e independentes.

Laboratório de Produtos Naturais

As pesquisa em andamento no Laboratório estão relacionadas com os dois núcleos. A pesquisa básica do Núcleo Químico-Biologia Quantitativa é o mapeamento e quantificação de dados químico-biológicos baseados em novos conceitos ecológico-evolutivos envolvendo os seguintes projetos:

Biodiversidade Amazônica: mapeamento e quantificação.

Biodiversidade químico-biologia quantitativa.

Modelagem da biodiversidade: um problema brasileiro.

O Núcleo de Fitoquímica tem como linha básica de pesquisa o projeto sobre produtos naturais bioativos de plantas brasileiras que busca princípios biodinâmicos nestas plantas para o combate às mais diferentes doenças. Ou seja, isolamento, purificação e elucidação estrutural de produtos naturais originários de plantas de diferentes ecossistemas; avaliação da bioatividade das plantas através de ensaios biológicos variados utilizando extratos brutos, frações semipurificadas e substâncias puras; monitoramento da bioatividade e treinamento de pessoal preenchendo o requisito de formação de recursos humanos na área. Subprojetos em fase de finalização:

Bothrops jararaca

Estudo químico e farmacológico de Rheedia longifolia – Esse estudo, já delineado com testes *in vivo,* gerou um pedido de proteção intelectual em outubro de 1999.

Cultivo, ecologia e validação do uso de Echinodorus macrophyllus (chapéu de couro) – Projeto amplo com várias etapas já elaboradas e com grande potencial farmacológico a ser concluído.

A escolha e seleção do material vegetal a ser trabalhado é feita com base na etnofarmacologia e quimiossistemática. A metodologia geral seguida nos projetos é a seguinte: 1) coleta da planta em diferentes ecossistemas; 2) preparo do material botânico: separação dos diferentes órgãos da planta, redução do material em pequenos fragmentos, secagem e moagem; 3) extração de material botânico com solventes apolares e polares (temperatura ambiente/em aparelho de Soxhlet); 4) os extratos obtidos serão fracionados por diferentes metodologias de cromatografias (crom.): CC - crom. em coluna com suporte sólido e crom. em coluna FE líquida, CCD - crom. em camada delgada em escala (analítica e preparativa) e CCCC - crom. centrífuga de contracorrente; 5) purificação das substâncias isoladas por recromatografia e recristalização; 6) elucidação estrutural - substância pura - análises espectrométricas: ultravioleta-UV, infravermelho-IR, ressonância magnética nuclear de próton e carbono-RMN ^{1}H e ^{13}C, espectrometria de massas-EM e técnicas especiais (COSY, DEPT, ATP, etc.); misturas: separação/caracterização: crom. líquida de alta eficiência - CLAE-CLAE/UV, CLAE/EM e CG/EM. Todos os extratos, frações semipurificadas e substâncias puras serão avaliadas e monitoradas nos mais diferentes ensaios farmacológicos.

Laboratório de Toxinologia

Imunidade natural: resistência de diferentes animais aos efeitos tóxicos produzidos pelos venenos de serpentes – Desde sua criação, o interesse científico do Laboratório tem-se centrado no estudo da resistência de certos animais, entre eles as serpentes e vários marsupiais brasileiros, aos venenos de cobras. Foi mostrada a capacidade dos soros desses animais e de frações protéicas isoladas deles de proteger outros mamíferos dos efeitos letais produzidos pelos venenos de serpentes. Trabalhando nesta área, nosso gru-

Didelphis marsupialis

po purificou e caracterizou parcialmente várias frações com atividade antiveneno dos soros de marsupiais brasileiros e das serpentes venenosas cascavel (*Crotalus durissus terrificus*) e jararaca (*Bothrops jararaca*).

Foi também demonstrada a capacidade de frações isoladas do soro do gambá (*Didelphis marsupialis*) de neutralizar os efeitos locais produzidos pelos venenos botrópicos, tais como hemorragia, edema, mionecrose e hiperalgesia. Além disso, essas frações mostraram-se capazes de neutralizar os venenos hemorrágicos de uma grande quantidade de espécies de serpentes da família Viperidae. A atividade anti-hemorrágica das frações presentes no soro do gambá e da jararaca é, pelo menos parcialmente, resultado da inibição específica de metaloproteases com atividade hemorrágica dos venenos de cobra.

Já foram determinadas as estruturas primárias completas de um dos inibidores de metaloproteases isolados do plasma do gambá e do inibidor de *B. jararaca*, utilizando tanto o seqüenciamento protéico pela química de Edman, quanto técnicas de biologia molecular.

Estamos também estudando o sistema de coagulação do gambá já que, ainda que as frações isoladas do seu soro não inibam as enzimas do tipo trombina presentes nos venenos botrópicos, ele não sofre as alterações fisiopatológicas no sistema de coagulação, características desse tipo de envenenamento. Mostramos que o fibrinogênio do gambá apresenta modificações estruturais que o fazem menos susceptível à ação de diferentes enzimas do tipo trombina, incluindo as provenientes de venenos.

No caso da fração isolada do soro da cascavel (CICS - *Crotoxin Inhibitor from Crotalus Serum*), foi demonstrada sua capacidade de neutralizar o efeito neurotóxico do veneno autólogo. Essa neutralização se deve à inibição específica da atividade PLA_2 da crotoxina (principal toxina do veneno da cascavel). Essa fração já foi parcialmente seqüenciada, clonada e expressa. Atualmente, estamos estudando as propriedades neutralizantes da proteína recombinante.

Atividade sobre o sistema de coagulação de frações isoladas de lagartas do gênero Lonomia – Em 1996, o Laboratório começou a trabalhar em uma outra linha de pesquisa estudando os efeitos sobre o sistema hemostático, fundamentalmente coagulação e fibrinólise, induzidos pelo veneno de uma lagarta do gênero *Lonomia*. É importante assinalar que o número de acidentes produzidos no Brasil pelo contato com essa lagarta tem aumentado muito nos últimos anos. Esta linha de pesquisa está se desenvolvendo através de uma colaboração com o Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Venezolano de Investigaciones Cientificas. Do veneno dessa lagarta já foi isolada, e parcialmente caracterizada, uma protease que possui atividade sobre fibrina, fibrinogênio e FXIII. Ela apresenta uma alta potencialidade como um novo trombolítico que poderia ser utilizado terapeuticamente.

Biomonitoramento de metais pesados em sistemas aquáticos – Na linha de biomonitoramento de metais pesados em sistemas aquáticos, estamos estudando os níveis de contaminação por metais pesados da cadeia trófica da baía de Sepetiba, após um acidente de derramamento de material poluente na região. Esse estudo compreende a avaliação da contaminação tanto dos animais mais abundantes na região (moluscos e peixes), quanto do homem, que utiliza estes animais como fonte de alimento.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Farmacologia Neurocardiovascular

No próximo período, o Laboratório continuará a privilegiar a formação de novos pesquisadores, atividade considerada como primordial em países em fase de desenvolvimento como o Brasil. É importante lembrar que o IOC, uma das instituições de pesquisa biomédica mais conceituadas no Brasil e no exterior, tem como uma das suas principais metas, e como uma das principais razões de sua existência, a formação de recursos humanos em nível de pós-graduação na área da saúde.

Além disso, adotaremos como lema o princípio "da bancada à beira do leito", visando à obtenção de uma maior interação entre a pesquisa biomédica básica e sua aplicação à terapêutica humana. Nesse sentido, já estabelecemos colaborações com diversos centros clínicos universitários, assim como temos participado na organização de eventos científicos que visam à integração dos pesquisadores de áreas básicas com os clínicos.

Laboratório de Imunofarmacologia

Como parte das metas para os próximos anos pretende-se intensificar a atuação em três pontos principais e esforços já estão sendo realizados nesse sentido.

Primeiramente, visamos aprofundar a abordagem molecular das linhas de pesquisa em andamento. Nesse sentido os pesquisadores receberam, durante o pós-doutorado, treinamento na área de biologia molecular aplicada ao estudo de patologias inflamatórias. Além disso, com parte dos financiamentos recebidos pelo Laboratório e com a ampliação do

espaço físico, está sendo montado um laboratório de técnicas de biologia molecular.

Em segundo lugar, temos um grande interesse em estreitar os laços de colaboração com a área clínica visando uma melhor correlação dos resultados experimentais com a prática médica. Colaborações já estão sendo estabelecidas.

Por último, temos por meta investir na formação e qualificação de pessoal na área de imunofarmacologia, principalmente em nível de doutorado. Estamos também estabelecendo interações para oferecer treinamento em experimentação laboratorial para doutorandos da área clínica.

Laboratório de Inflamação

Em estudos futuros o Laboratório pretende desenvolver as seguintes áreas: 1) estabelecer um modelo de inflamação pulmonar alérgica experimental voltado não apenas para o acompanhamento de parâmetros vasculares e celulares, mas também para o estudo da hiper-responsividade brônquica. Esse sistema será importante para aproximar o estudo mecanístico e novas abordagens terapêuticas do tratamento da doença asmática e de outras disfunções das vias aéreas; 2) estabelecer novos sistemas *in vitro*, incluindo cultura de células primárias e linhagens específicas humanas, com o objetivo principal de viabilizar screenings de novos compostos de origem natural ou sintéticos que possam funcionar como agentes terapêuticos anti-inflamatórios ou antialérgicos alternativos.

Laboratório de Produtos Naturais

As perspectivas do *Núcleo Químico Biologia-Quantitativa* estão voltadas para a biodiversidade hoje no Brasil, uma das últimas fronteiras biológicas do mundo, constituindo uma fonte importante de riqueza. No entanto, o seu impacto para a garantia do bem-estar e da saúde do povo somente será atingido através do mapeamento e da quantificação de dados químico-biológicos. Essa meta exige o conhecimento da linguagem da natureza a fim de entender, participar e interferir no seu funcionamento.

A biodiversidade, no estágio descritivo no qual se encontra, não passa de um assunto de reuniões técnico-científicas, pois não consegue responder a três perguntas fundamentais, pré-requisitos para qualquer aplicação prática do conceito biodiversidade: Onde ela está? Por que lá se encontra? O que acontecerá com ela?

O grupo pretende responder a essas três perguntas mediante o desenvolvimento de uma base teórica segura para avaliar e medir a biodiversidade, viabilizando: 1) detecção de interações e influências recíprocas de organismos; 2) elaboração de esquemas classificatórios através de considerações fisiológicas, morfológicas, químicas, ecogeográficas e evolutivas; 3) indicação de áreas com maiores potencialidades para a descoberta de princípios bioativos; 4) orientação de zoneamentos para o estabelecimento de prioridades para conservação e uso de áreas.

Além das atividades na área de pesquisa, o Núcleo tem como objetivo continuar a desenvolver atividades de ensino da química e da biologia de produtos naturais e da biodiversidade, visando à formação de pessoal especializado nessas áreas em nível de graduação e pós-graduação.

Quanto ao *Núcleo de Fitoquímica* as perspectivas visam à busca contínua de novas fontes bioativas em plantas, contribuindo para o combate às mais diferentes doenças.

Laboratório de Toxinologia

As perspectivas do Laboratório têm como objetivo principal dar continuidade às diferentes linhas de pesquisa que estão sendo desenvolvidas. Na linha da resistência aos venenos de serpentes, continuaremos aprofundando nossos conhecimentos tanto das características físico-químicas das frações já purificadas e de novas frações a serem purificadas de outros animais resistentes, quanto dos mecanismos envolvidos no processo de neutralização das atividades tóxicas dos venenos de serpentes. Por hidrólise enzimática e/ou química das frações ativas, produziremos peptídeos que serão utilizados nos estudos de estrutura primária das frações e nos ensaios de neutralização.

A possibilidade de utilizar as frações isoladas dos soros dos diferentes animais resistentes no desenvolvimento de uma nova terapêutica contra a ação de venenos de serpentes é uma das mais importantes perspectivas de nossos projetos. O objetivo maior, a longo prazo seria alcançar sua aplicação em seres humanos e em animais economicamente importantes, sujeitos em seu habitat natural a picadas de cobras. Outra possibilidade importante é a de utilizarmos essas frações como ferramentas no estudo dos diferentes mecanismos fisiopatológicos envolvidos no envenenamento ofídico. Além disso, no caso particular dos inibidores de metaloproteases de venenos de serpentes, pretendemos avaliar a capacidade destes de inibir outras metaloproteases que sabidamente participam em importantes processos fisiológicos ou que estão envolvidas em diversas patologias, tais como artrite, ulceração e metástase.

Na linha relativa ao veneno da *Lonomia*, estamos desenvolvendo estudos *in vivo* do efeito de frações isoladas dele sobre o sistema de coagulação, especificamente como trombolítico, em modelos de trom-

bose artificialmente induzida em coelhos. Além disso, continuaremos trabalhando na caracterização bioquímica da proteína isolada da hemolinfa da lagarta que apresenta atividade sobre o fator XIII, a fibrina e o fibrinogênio. Nossos resultados preliminares mostraram que o fator ativo induz à lise de coágulos pré-existentes, além de inibir a estabilização de novos, impedindo, portanto, os processos de retrombose intravascular. Esses resultados nos levam a acreditar no seu possível uso terapêutico nos processos tromboembólicos.

Devemos assinalar que a formação de recursos humanos tem sido um dos objetivos prioritários de nosso Laboratório. Atualmente, estão desenvolvendo atividades de pesquisa treze pessoas em fase de formação em diferentes níveis, desde a vocação científica até o pós-doutoramento, objetivo que terá continuidade nas perspectivas do Laboratório.

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACODINÂMICA

CHEFE: *Jonas Enrique Perales Aguilar*

LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA NEURO-CARDIOVASCULAR

CHEFE: *Eduardo Vera Tibiriçá*

Alberto Peribanez Gonzalez	Pesquisador Visitante/Faperj
Eduardo Vera Tibiriçá	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE IMUNOFARMACOLOGIA

CHEFE: *Hugo Caire de Castro Faria Neto*

Andréa P. Larangeira	Tecnologista/Faperj
Hugo Caire de Castro Faria Neto	Pesquisador Adjunto
Patricia Torres Bozza	Pesquisador Visitante/CNPq

LABORATÓRIO DE INFLAMAÇÃO

CHEFE: *Marco Aurélio Martins*

Ana Lúcia A. Pires	Pesquisador Visitante/Faperj
Marcia Coronha Ramos Lima	Pesquisador Adjunto
Marco Aurélio Martins	Pesquisador Titular
Patrícia M. Rodrigues e Silva	Pesquisador Titular
Renato Sergio Balão Cordeiro	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE PRODUTOS NATURAIS

CHEFE: *Otto Richard Gottlieb*

Maria Raquel de Figueiredo	Pesquisador Titular
Maria Renata M. B. Borin	Pesquisador Visitante/CNPq
Otto Richard Gottlieb	Pesquisador Visitante/CNPq

LABORATÓRIO DE TOXINOLOGIA

CHEFE: *Jonas Enriques Perales de Aguilar*

Jonas Enriques Perales de Aguilar	Pesquisador Titular
Belsy G. Guerreiro	Pesquisador Visitante/CNPq

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

HISTÓRICO

O Departamento é um dos mais novos do Instituto Oswaldo Cruz (IOC) tendo iniciado, efetivamente, suas atividades no segundo semestre de 1986, com a chegada dos pesquisadores Henrique Krieger, Pedro H. Cabello e Maria do Céu A. Abreu. Criado, inicialmente, para dar suporte genético-estatístico aos departamentos do IOC, procurou logo firmar seus alicerces como Departamento, diversificando, aos poucos, suas linhas de pesquisa. A pesquisadora Ana Carolina P. Vicente foi agregada ao grupo, que constituiu o núcleo que deu início às atividades do Departamento.

Atualmente, está estruturado em três laboratórios: Epidemiologia de Malformações Congênitas, Genética Humana e Genética Molecular de Microrganismos.

O Departamento concentra sete pesquisadores, sendo quatro do quadro e três visitantes, que orientam seis teses de mestrado, sete de doutorado, além de bolsistas de iniciação científica. Publica em média mais de quinze trabalhos por ano.

Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas

A história do Laboratório está totalmente fundamentada no Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas (ECLAMC), que é um programa de pesquisa clínica e epidemiológica, de extensão latino-americana, cujo principal objetivo é a prevenção dos defeitos congênitos. Iniciado em 1967, integrou-se ao Departamento em 1987, quando a Coordenação do Programa para aí se transferiu. Por sua importância científica internacional, a vinda do coordenador do programa ECLAMC, Eduardo E. Castilla, propiciou a criação de um novo grupo, ampliando as linhas de pesquisa e consolidando as atividades do Departamento. Em 1991, o grupo foi credenciado como Laboratório. Pela competência científica demonstrada em sua área, o ECLAMC foi designado pela OMS como Centro Colaborador para a Prevenção de Malformações Congênitas, em 1989, tendo sido, através de sucessivos processos de avaliação, redesignado como Centro a cada quatro anos, sendo atualmente, um dos 21 centros da OMS existentes no Brasil e um dos dois únicos pertencentes à Instituição.

O Laboratório conta com dois pesquisadores. Embora o grupo seja reduzido, apresenta um desempenho considerável, tendo publicado nos últimos seis anos mais de quarenta trabalhos em revistas internacionais e dois livros pela editora Fiocruz. Duas teses de doutorado e uma de mestrado foram defendidas no período e quatro estão em andamento.

Faz-se necessário descrever brevemente o funcionamento do ECLAMC, uma vez que a evolução e as linhas de pesquisa do Laboratório estão intimamente relacionadas ao Programa. O ECLAMC inclui o estudo permanente da freqüência das malformações e suas variações no tempo e no espaço; o estudo de causalidade pela análise de cinqüenta fatores de risco com enfoque caso-controle; e a manutenção de um banco de dados com características reprodutivas de populações urbanas latino-americanas. Desde sua criação, em 1967, o ECLAMC observou, padronizada e sistematicamente, mais de quatro milhões de nascimentos, ocorridos em 150 séries consecutivas, correspondentes a 150 hospitais participantes, distribuídos em quarenta cidades de doze países latino-americanos, criando um arquivo de dados especializado e de alta complexidade. A rede formada pelas 150 maternidades, superposta a outra rede de quinze centros de genética médica que servem de apoio à rede hospitalar, integra-se, através do grupo coordenador do programa situado na Fiocruz, em um sistema de colaboração internacional, a *International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems* (ICBD), que além de produzir informação, implementar ações assistenciais e preventivas, capacita recursos humanos e gera normas diagnósticas, terapêuticas e preventivas dos defeitos congênitos. No ano de 1999 o ECLAMC lançou o seu site com o objetivo não só de facilitar o intercâmbio entre os membros do programa, mas também de divulgar seus trinta anos de experiência no campo da prevenção de malformações para todos os interessados no tema, pertencentes ou não ao setor de saúde.

Laboratório de Genética Humana

A criação, em 1985, do Departamento não pode estar dissociada do Laboratório de Genética de Populações (atual Laboratório de Genética Humana), uma vez que o pessoal científico daquele Laboratório constituiu o núcleo fundamental para a implantação e consolidação do Departamento.

Sob a liderança de H. Krieger e com o auxílio de entidades de fomento como Finep, CNPq e Faperj foi possível montar a infra-estrutura necessária para estudos de variabilidade protéica e imuno-hematologia, um setor de computação genético-estatístico e criaram-se as condições mínimas para o desenvolvimento de trabalhos com culturas celulares de curta duração e microrganismos, permitindo a consolidação das linhas de pesquisa inicialmente propostas.

Em meados de 1987, incorporou-se ao Laboratório Eduardo E. Castilla, e dessa forma o Programa ECLAMC passou a ter sua coordenação central no Departamento. Posteriormente, pesquisadores envolvidos com o programa deram origem ao Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas.

Deve-se mencionar que, em termos quantitativos, desde então o Laboratório tem permanecido praticamente estático, pois o único acréscimo verificado foi a incorporação da pesquisadora Mary Furlan Feitosa e da técnica Giselda M. K. de Cabello. Ao finalizar o ano de 1991, o Laboratório teve um desfalque com a saída de H. Krieger e de Maria do Céu A. Abreu. No ano de 1999 ocorreu a saída de Mary F. Feitosa.

É importante salientar que, apesar do número de pesquisadores ser bastante reduzido, o Laboratório apresenta um aumento significativo na diversificação de suas áreas de atuação e da sua produtividade, em termos de trabalhos publicados, tanto em revistas nacionais como internacionais.

Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos

O Laboratório foi reconhecido em 1998, mas vinha atuando como Núcleo desde 1993. Sua atividade de pesquisa tem como enfoque principal o estudo da variabilidade genética de microrganismos, em particular bactérias da família Vibrionaceae e os retrovírus. O estudo da variabilidade genética faz interface com distintas áreas como evolução, virulência, epidemiologia, diagnóstico, entre outras; o trabalho do Laboratório tem refletido todas essas possibilidades.

Como uma de suas principais características, o Laboratório mantém projetos de pesquisa em colaboração com grupos de outras instituições do país, do exterior e com outros laboratórios da Fiocruz.

Participa intensamente da formação de recursos humanos, quer por orientação efetiva de teses, quer pela participação em cursos. Outra faceta do grupo é sua interação com os serviços envolvidos em diagnóstico. O Laboratório pertence à Rede Nacional de Subtipagem do HIV e é também Laboratório de Apoio para o Diagnóstico Molecular do HIV-2, ambos do Ministério da Saúde.

Os projetos envolvendo o estudo da variabilidade genética do *Vibrio cholerae* têm permitido que a epidemia de cólera em nosso país seja analisada em detalhes. Sabemos que na Amazônia há cepas variantes causando cólera; algumas simplesmente mudaram um caracter fenotípico importante no diagnóstico bioquímico (a fermentação de sacarose) e outra, a variante amazônia, com todo um genótipo particular e em especial com fatores de virulência ainda desconhecidos. O Laboratório tem estudado também a variabilidade dos principais genes envolvidos na patogênese da cólera. Os resultados têm permitido que o diagnóstico das diarréias da Amazônia assuma uma nova abordagem, o que possibilitou o diagnóstico pioneiro da presença de *Escherichia coli* enterotoxigênica em surtos de diarréia no estado do Amazonas.

Em relação à variabilidade dos retrovírus temos nos dedicado à caracterização molecular, quanto aos subtipos, da epidemia de HIV-1 em diferentes pontos do país, ao estudo da recombinação, à vigilância da resistência aos anti-retrovirais e ao diagnóstico molecular do HIV-2 e HTLV.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas

Coordenação do Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas — O ECLAMC estuda a causa dos defeitos congênitos humanos com metodologia clínica e epidemiológica, incluindo uma eficiente rede de informação em toda a América do Sul, que permite a execução de projetos de pesquisa específicos dentro do seu marco operacional maior. A principal infra-estrutura de apoio já existente é sua rede de captação de pacientes com defeitos congênitos, experimentada em mais de trinta anos na colheita sistemática de informações padronizadas e sujeitas a processos continuados de controle de qualidade. Grande parte do trabalho do Laboratório está voltada para essa rotina exaustiva, que implica em agilidade e regularidade necessárias para manter a qualidade da informação coletada. Desta

agilidade na recepção, processamento e interação permanente com os hospitais, as fontes dos dados, depende a eficiência do processo de vigilância epidemiológica, realizado com periodicidade trimestral, cuja informação é intercambiada com a ICBD. Objetivos: dar continuidade aos 32 anos de existência do Programa ECLAMC através da 1) identificação e avaliação de fatores genéticos e ambientais na causalidade das anomalias congênitas que fundamentem ações preventivas dirigidas a grupos populacionais em risco; 2) vigilância epidemiológica das malformações congênitas: análise sistemática das distribuições de freqüências no tempo e no espaço; 3) delimitação epidemiológica de fenótipos dismorfológicos que facilitem a identificação de quadros malformativos, patogênica e etiologicamente mais homogêneos.

Ecologia e defeitos congênitos – A preocupação ecológica é uma marca deste final de século, que abrange todas as áreas, inclusive a da saúde, entre elas os defeitos congênitos. Apesar disso, as evidências de efeitos teratogênicos da contaminação ambiental são praticamente inexistentes. Cubatão tem sido um excelente exemplo de falácia ecológica no campo das malformações, oportunamente estudado e afastado pelo ECLAMC. Em parte, tal falta de evidências deve-se a limitações metodológicas que este trabalho pretende contornar. A pretensão, embora válida, é sem dúvida muito ambiciosa. Os objetivos de correlação ambiente/malformação podem ser facilmente invalidados por limitações amostrais ou pela ação de variáveis de confusão incontroláveis. Apesar disso, o objetivo de análise de focos e a produção de um atlas de malfor-mações com técnicas modernas de GIS (*Geographic Information System*) está garantido, além do valor óbvio, gerar uma base de dados altamente especializada disponível para futuras pesquisas. Sob a premissa de especificidade teratogênica (um teratógeno gera um tipo de malformação determinada) e de não proteção ambiental (a atividade econômica é igual à contaminação ambiental), esta linha de pesquisa visa correlacionar atividades específicas com a freqüência de malformações também específicas. Objetivo: correlacionar a distribuição das taxas de prevalência ao nascimento de defeitos congênitos em pequenas áreas geográficas (municípios) com variáveis de atividade econômica, utilizadas como indicadores de contaminação ambiental, levando em conta altitude, nível social e técnicas diagnósticas disponíveis.

A distribuição de freqüências de lábio leporino na América Latina, indicando uma correlação com altitude e com origem ameríndia, próprias da área andina. (De: E. E. Castilla et al. *Atlas Geográfico de las Malformaciones Congénitas en Sudamérica*. Organização: M.G. Dutra, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 1996)

Sobrevida da síndrome de Down – As estratégias de prevenção terciária dos defeitos congênitos inclui a melhoria da qualidade de vida dos pacientes afetados. A mortalidade dos casos com síndrome de Down é desconhecida em nosso meio, porém suspeita-se que seja em torno de 30% ao final do primeiro ano de vida, valor que na Suécia é de apenas 7%. Uma análise da mortalidade por estrutura de causas pode ser o início de programas de atenção diferenciada tendentes a modificar esta situação.

Esta linha de pesquisa está sendo abordada através de dois enfoques complementares: um retrospectivo e outro prospectivo. O primeiro pretende validar o vício introduzido no segundo por seu componente de intervenção. Por causa do vício metodológico, espera-se uma taxa de mortalidade infantil sobrestimada no enfoque retrospectivo e subestimada no prospectivo. A realidade deve estar entre ambos os valores. Nos dois enfoques, localizações e acompanhamentos dos casos são feitos com a colaboração de associações de pais articuladas com os pediatras da rede ECLAMC de maternidades. No enfoque retrospectivo, os casos de síndrome de Down nascidos em hospitais da rede ECLAMC, em um determinado período, são localizados e através de entrevista com os pais é determinada a vitalidade, causa morte, se morto, e estado de saúde, se vivo, segundo protocolos desenvolvidos para esse fim. No enfoque prospectivo, os casos serão seguidos periodicamente, até a idade de um ano, seguindo protocolos pré-estabelecidos. Em ambos os enfoques, os dados serão analisados segundo técnicas

de tabelas de vida apropriadas, denominadas sobrevida atuarial. A etapa prospectiva desta linha de pesquisa visa agir como programa de intervenção, tendendo a melhorar a qualidade e quantidade de vida das crianças afetadas. Dentro da prevenção terciária dos defeitos congênitos, a mortalidade da síndrome de Down deve ser prioritária, pela alta freqüência desta síndrome e pelo valor da morte como extremo inferior da qualidade de vida. O trabalho é pretensioso, já que não é simples, em nosso meio, articular o corpo médico com entidades civis, porém a interação com as associações de pais é uma atividade de tal importância que justifica por si só a linha de pesquisa em desenvolvimento. Objetivo: determinação das taxas e causas de mortalidade da síndrome de Down durante o primeiro ano de vida.

Estudo dos recém-nascidos polimalformados – Os polimalformados constituem um dos grupos diagnóstico de defeitos congênitos de maior freqüência, gravidade e desconhecimento, com respeito às suas causas e mecanismos de produção. A grande maioria dos casos apresenta duas ou mais malformações não obviamente inter-relacionadas, seja etiológica ou patogenicamente, porém tem causa desconhecida e não compõe nenhum quadro clínico reconhecido. Esses recém-nascidos com malformações múltiplas são de grande interesse, do ponto de vista da teratologia humana, já que quase todo o conhecimento de que se dispõe sobre teratógenos ambientais, mostra um aumento na freqüência de um determinado padrão de defeitos múltiplos, ao invés do aumento de apenas um único defeito isolado. Um sistema de vigilância de malformações precisa estar preparado para detectar novos padrões de associações nos recém-nascidos polimalformados. Como um estudo deste tipo requer um tamanho amostral muito grande, a presente linha de pesquisa contará com a participação dos registros de malformações da Suécia, Itália e França (Lyon), além do próprio ECLAMC, todos membros da ICBD. É uma linha de pesquisa de longo prazo a ser continuada com colaborações internacionais na procura de novas metodologias de análise, importantes para os programas de vigilância epidemiológica de malformações. Objetivos: desenvolver um método para definir, estatisticamente, a associação entre diferentes malformações que não integram uma síndrome de causa conhecida ou suspeita.

Epidemiologia das cardiopatias congênitas – As cardiopatias congênitas constituem o tipo de malformação congênita mais freqüente, afetando aproximadamente 1% dos nascimentos. Entretanto, a epidemiologia das cardiopatias congênitas é quase desconhecida pois até pouco tempo atrás a maior parte delas passava despercebida no período neonatal, momento ideal para os estudos epidemiológicos por se referir a um denominador populacional e porque as observações ainda estão pouco viciadas pela mortalidade diferencial. O aparecimento e gradual disseminação das técnicas de diagnósticos por imagens, pré e pós-natais, têm produzido um marcado aumento nas freqüências registradas das cardiopatias congênitas durante os últimos dez anos em todo o mundo e mais recentemente no nosso meio latino-americano. Conseqüentemente, existe até agora um único estudo clínico e epidemiológico das cardiopatias congênitas na literatura mundial, efetuado na Suécia, enquanto a literatura sobre a situação na América Latina é simplesmente inexistente. O presente projeto pretende preencher esta lacuna na literatura mundial sobre o assunto propondo os seguintes objetivos: 1) determinar um sistema de classificação das cardiopatias congênitas, para o manejo em programas de pesquisa e de vigilância epidemiológicas, capazes de definir subtipos de cardiopatias congênitas com certa homogeneidade etiopatogênica; 2) descrever a distribuição da freqüência populacional de cada subtipo de cardiopatia congênita e suas variações geográficas e temporais (secular e sazonal) em populações latino-americanas; 3) analisar a associação de cada subtipo de cardiopatia congênita com outras anomalias congênitas, definindo sua freqüência de participação em síndromes, seqüências e associações identificáveis; 4) calcular o risco relativo para cada subtipo de cardiopatia congênita para variáveis genético-ambientais.

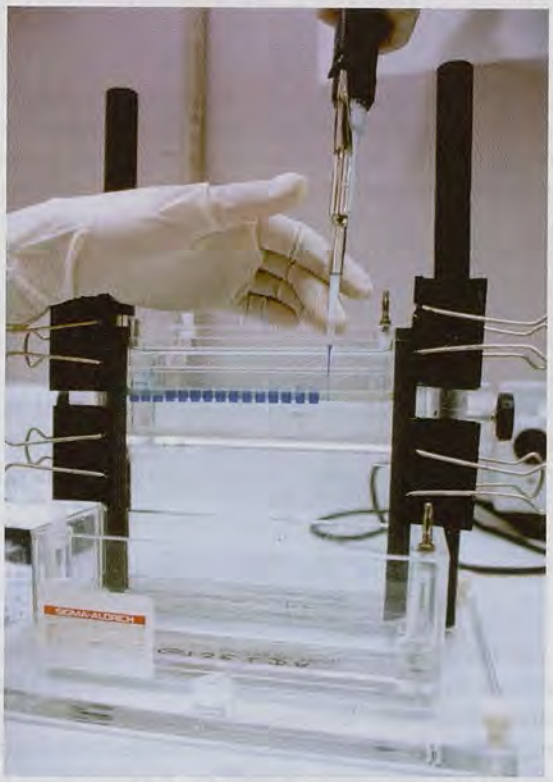
Laboratório de Genética Humana

Os projetos em desenvolvimento apresentam uma característica comum: a necessidade de análise fazendo uso dos mais recentes métodos da epidemiologia genética. Basicamente nosso interesse está centrado na determinação das causas herdáveis (tanto as genéticas como as culturais) sobre a etiologia, distribuição e modulação das formas clínicas de diversas características biológicas, com ênfase em doenças condicionadas, pelo menos em parte, por fatores genéticos.

Em relação às principais linhas de pesquisa e aos projetos a que pretendemos dar continuidade nos próximos anos podemos destacar:

Variabilidade genética de populações brasileiras – Estudo da estrutura genética, o grau de endocruzamento, heterozigosidade e mistura racial de diversas populações brasileiras. Os principais projetos relativos a esta linha de pesquisa são: *Caracterização da população do Rio de Janeiro através de marcadores moleculares* – Caracterização da

população do Rio de Janeiro, estudando a estrutura populacional, o coeficiente de endocruzamento, a heterozigosidade e a mistura racial através de bioensaios, utilizando sistemas séricos (ACP1 e GLO-1) e marcadores moleculares (GSTM1, GSTT1, HUMTH01, HUMPLA2A, os loci CYP2D6 e CYP2E1 dos citocromos P450 humanos, repetições Alu no cromossoma Y e STRs mitocrondriais). Esses estudos serão feitos sobre uma grande amostra de indivíduos não relacionados, coletados no Banco de Sangue do Hospital Universitário da UFRJ, a fim de criar um banco de dados que torne possível a montagem de um Centro de Investigação de Paternidade e resolução de problemas genéticos aplicados na investigação forense. *Estrutura genética de um antigo quilombo do interior do estado de Mato Grosso do Sul* – Caracterização de um isolado populacional de origem negróide, fazendo uso de marcadores genéticos sangüíneos e moleculares. É previsto ainda o estudo da distribuição de diversas doenças parasitárias e seus possíveis efeitos sobre a dinâmica gênica da população. *Estudo comparativo entre as populações que circundam o sitio arqueológico da Serra da Capivara (São Raimundo Nonato – PI)* – Verificar as diferenças genéticas entre as populações que atualmente vivem nas vizinhanças desse sítio arquelógico para tentar encontrar explicações sobre as diferenças observadas na prevalência da doença de Chagas, encontrar as prováveis relações filogenéticas entre si e em relação às populações antigas já desaparecidas. Neste caso, além dos marcadores genéticos sangüíneos e de DNA genômico, serão utilizados também marcadores de DNA mitocondrial. *Estudo da heterogeneidade genética de macacos Rhesus mantidos em cativeiro no biotério da Fiocruz* – Caracterização da estrutura genética, grau de heterozigosidade e endocruzamento da população de macacos Rhesus do biotério da Fiocruz através de marcadores moleculares.



Preparação de eletroforese para separação de fragmentos de DNA

O estudo das possíveis associações ente a susceptibilidade às infecções parasitárias e diferentes marcadores genéticos eritrocitários, séricos e moleculares – Verificar os possíveis efeitos de fatores sócio-econômicos e antropológicos sobre a etiologia, distribuição e modulação das formas clínicas de doenças parasitárias como a leishmaniose visceral, esquistossomose mansônica, Chagas, tuberculose e hanseníase. Neste tipo de análise é necessário o desenvolvimento de novos modelos estatísticos e/ou uso das modernas técnicas de análise de segregação complexa. O principal projeto relacionado com esta linha é: *Estudo de polimorfismos genéticos em loci candidatos à susceptibilidade a doenças infecciosas* – Análise da distribuição alélica dos genes NRAMP1 e MBP entre indivíduos sadios e pacientes infectados por hanseníase, tuberculose, Chagas e hepatites, visando estudar as possíveis associações entre estes genes e a susceptibilidade/resistência tanto à infecção como ao desenvolvimento da doença.

Estudos epidemiológicos e moleculares de doenças condicionadas por fatores de origem genética – Nesta linha de pesquisa são estudados fatores genéticos envolvidos com o desenvolvimento de doenças não parasitárias mono ou multigênicas.

Estudo do perfil de mutações do gene da fibrose cística – Dentro desta linha de trabalho pretende-se efetuar a amplificação de diversos exons da proteína CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*) com o intuito de detectar possíveis mutações específicas de nosso pool gênico. A razão principal deste trabalho é que a freqüência do mutante DF508 (principal responsável pela doença) entre os fibrocísticos de nosso meio é bastante baixa (31%), quando comparada com as médias encontradas na população mundial (68%). Acreditamos que a mistura racial de nossas populações seja responsável por estes resultados e, como um dos principais componentes da mistura racial brasileira é a raça negra, é muito provável que entre os 69% de alelos restantes existam prováveis alelos de origem negróide. Se os resultados desses estudos confirmarem essas sugestões, os benefícios se refletiriam em uma mudan-

ça nos métodos de rastreamento de mutantes, o aconselhamento genético seria muito mais exato e permitiria ainda o desenvolvimento de kits-diagnóstico apropriados para nossa população.

Estudo da composição haplotipica determinada por marcadores intra e extragênicos do locus CFTR – O uso de haplotipos de marcadores do gene da fibrose cística como meio de diagnóstico molecular e seu possível uso no desenvolvimento de um kit diagnóstico da doença.

Estudos sobre polimorfismo da proteina Glutationa S-Tranferase (GST) e sua relação com o desenvolvimento de diversas doenças, principalmente sua associação com vários tipos de câncer – A importância do estudo deste polimorfismo pode ser apreciada pelos seguintes fatos: 1) a GST humana constitui-se em uma família de isozimas determinada por diversos locos gênicos, expressos em órgãos específicos, alguns dos quais polimórficos. A função básica da GST está relacionada com o processo de desintoxicação e eliminação de produtos tóxicos e xenobióticos eletrofílicos; recentemente diversos deles têm mostrado sua associação com diferentes tipos de câncer e doenças hepáticas. Em humanos, a maior atividade da GST parece ser produzida no fígado, onde se verifica a expressão do loco GST1, o qual apresenta três alelos polimórficos, sendo o mais freqüente deles um alelo silencioso que aparentemente não tem produto protéico reconhecível. Esses três alelos são expressos em quatro diferentes fenótipos, cuja distribuição em relação à infecção e desenvolvimento da esquistossomose torna-se um assunto de interesse, principalmente quando se procura mecanismos responsáveis pela variabilidade das formas clínicas da doença; 2) esta enzima também é produzida pelo parasita e utilizada por ele para proteger-se das células imunológicas humanas (mimetismo); 3) por outro lado, essa proteina, surpreendentemente, apresenta efeitos imunizantes contra a infecção em diversos organismos (roedores, primatas e bovinos) razão pela qual é considerada uma vacina em potencial.

Polimorfismos genéticos dos loci CYP2D6 e CYP2E1 dos citocromos P450 humanos – Analisar a distribuição alélica dos loci CYP2D6 e CYP2E1 em amostras de indivíduos normais e afetados por câncer de mama e estudar sua possível associação com a susceptibilidade à doença.

Estudo genético molecular da distrofia miotônica – Determinar o grau de associação entre o número de repetições de segmentos de DNA, dentro do gene da distrofia muscular miotônica, e as características clínicas da doença.

Estudos de associação entre genes candidatos à resistência ou susceptibilidade a diversos tipos de câncer – Determinar as freqüências gênicas das GST (loci GSTM1 e GSTT1) e dos loci CYP1A1, CYP2D6 e CYP2E1 (dos citocromos P450), em amostras de afetados por câncer de mama e respectivos controles, com o intuito de verificar a associação desses loci e o câncer.

Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos

Os projetos envolvem o estudo da variabilidade genética e seus reflexos na biocomplexidade dos microrganismos. O conhecimento gerado vem sendo aplicado em questões que envolvem a evolução, epidemiologia molecular, genes associados à viruência e diagnóstico de vírus e bactérias, em especial das *Vibrio cholerae* e *V. mimucus* e dos retrovírus HIV e HTLV. Trabalhamos, principalmente, com amostras originárias da Amazônia brasileira.

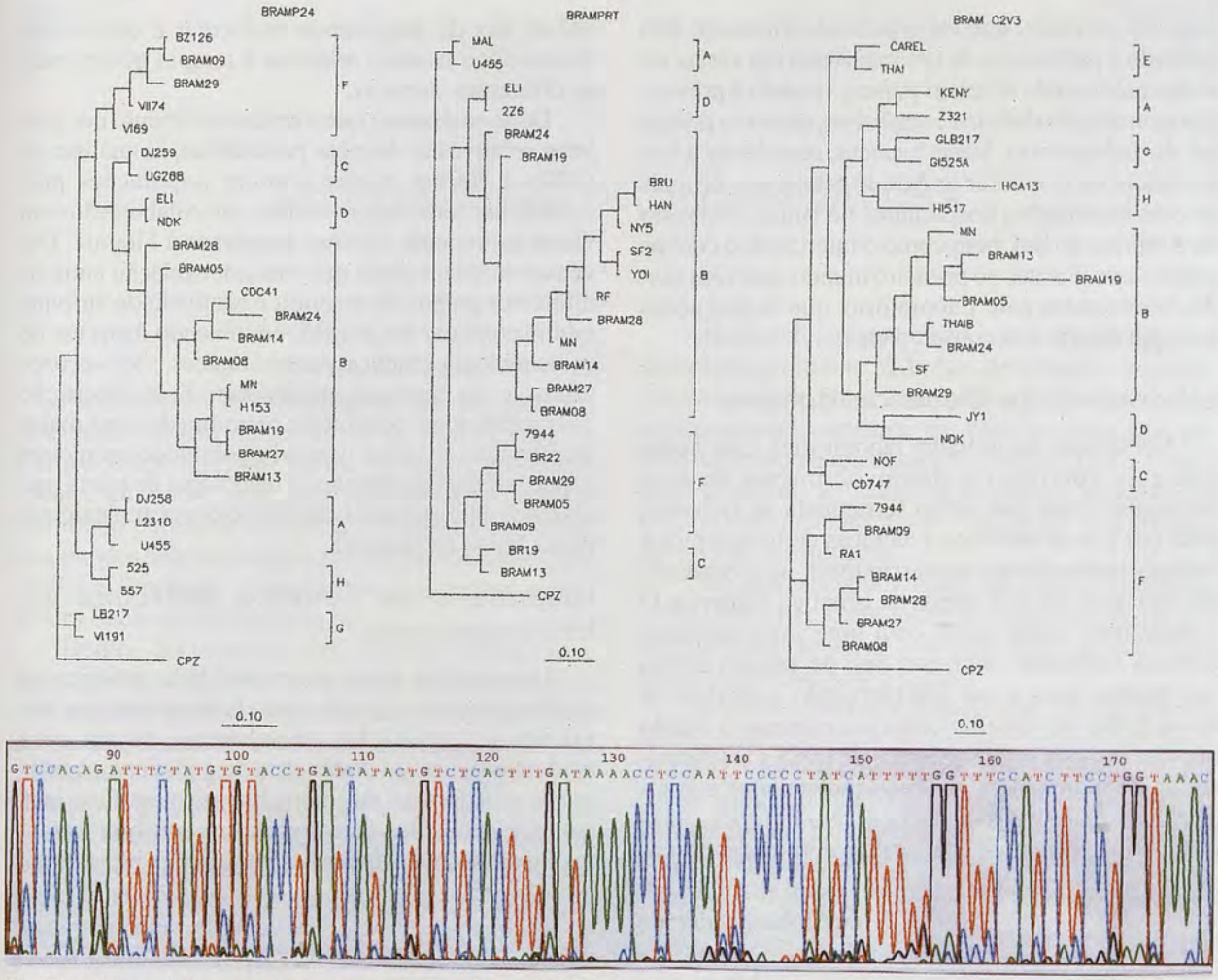
Na interface com a saúde pública o Laboratório mantém a vigilância epidemiológica do HIV-2 no país e, recentemente, engajou-se no projeto de determinação da etiologia das diarréias bacterianas na região amazônica com a proposta do diagnóstico molecular como grande alternativa para a questão.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Os laboratórios do Departamento contam agora com uma infra-estrutura mínima necessária para dar prosseguimento às suas linhas de pesquisa, graças aos auxílios concedidos pela Fiocruz, Papes, Finep, Faperj e CNPq, entre outros, incluindo o recente espaço físico. Parte das linhas de pesquisa desenvolvidas pelos três laboratórios estão sendo realizadas em colaboração com várias instituições internas e externas à Fiocruz. O enfoque colaborativo multiinstitucional adotado pelo Departamento tem propiciado maior e melhor capacitação de recursos humanos das instituições envolvidas e levará à transferência de metodologias e tecnologias à medida que vão sendo exigidas pela procura gerada.

Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas

O Laboratório se propõe apenas a continuar a tarefa de manter o Programa ECLAMC, que durante trinta anos tem demonstrado experiência em sua área, e otimizá-lo de acordo com as novas tecnologias disponíveis, seja em informática, bioestatística ou arquivologia, permitindo assim dar prosseguimento às linhas de pesquisa já em desenvolvimento bem



Decifrando o código genético para estudos de variabilidade de microrganismos e genes o que permite estabelecer relação filogenética assim como novas abordagens para diagnósticos.

como a implementação de novas linhas. Para o próximo decênio o Laboratório pretende estudar a viabilidade do uso da tecnologia de assistentes pessoais digitais para a coleta de dados epidemiológicos do ECLAMC, através do desenvolvimento de um sistema móvel de coleta de dados. Isto proporcionará, não só a diminuição da rotina exaustiva necessária para a manutenção da qualidade da informação coletada, como também, uma maior agilidade na recepção e validação da informação. Em nível institucional, o novo espaço físico do Laboratório permitirá seu natural crescimento, principalmente no que se refere à formação de recursos humanos científicos e técnicos.

O ECLAMC vem demonstrando toda a sua experiência em já ter assessorado aos governos de Cuba e Costa Rica na organização de seus registros nacionais de vigilância epidemiológica de malformações, através da intermediação da Opas, ao emprestar metodologia e tecnologia. À medida que as taxas de mortalidade infantil em outros países latino-americanos caiam abaixo de 20/1000, limiar em que os defeitos congênitos passam a ocupar o lugar de primeira causa de morte infantil, a articulação desses países com o Laboratório será sem dúvida inevitável. O Laboratório pretende manter o lugar competitivo que ocupa em nível mundial, desempenhando um papel de liderança nos órgãos internacionais tais como Opas, OMS e ICBD, atuando conjuntamente em ações de prevenção de defeitos congênitos.

A recente redução nas taxas de mortalidade infantil proporcionada pelo melhor controle das doenças infecto-contagiosas e da desnutrição nos países em desenvolvimento, colocam os defeitos congênitos entre as primeiras causas de morte infantil, passando a ser um problema importante em saúde publica, como tem acontecido na Costa Rica e Uruguai. Isto mostra a necessidade de ampliar nossa participação em campanhas educativas sobre fatores de

risco na gravidez, que até o presente momento têm incluído a publicação de um manifesto em várias revistas médicas de diversos países, visando à prevenção primária de defeitos congênitos, objetivo principal do Laboratório. Neste aspecto, ressalta-se a importância de se manter integrado este grupo de mais de cem instituições hospitalares no Brasil e no resto da América do Sul, bem como o intercâmbio com os grupos semelhantes no primeiro mundo, que vêm sendo coordenados pelo Laboratório, que exerce ações preventivas em sua comunidades.

Laboratório de Genética Humana

Em relação ao trabalho laboratorial, é do nosso interesse continuar o desenvolvimento da área molecular e seu uso como ferramenta de trabalho, uma vez que os métodos e técnicas de bioquímica e biologia molecular são imprescindíveis, na época atual, em qualquer um dos ramos da genética moderna. O Laboratório conta agora com uma infra-estrutura mínima suficiente para este tipo de estudo, obtida nos últimos anos, o que tem permitido a abertura de novas linhas de trabalho como por exemplo o estudo populacional de polimorfismos de DNA e a determinação de marcadores genético-moleculares associados a diversos tipos de doenças. No futuro, esperamos incluir rotinas de análise de paternidade, desenvolver kits de diagnóstico molecular e certamente desenvolver estudos relativos à terapia gênica para as diferentes doenças.

Deve-se destacar que o desenvolvimento dos projetos relativos às doenças parasitárias; às análises da GST; à fibrose cística e sobre populações pré-colombinas serão desenvolvidos em colaboração com várias instituições internas e externas à Fiocruz. Devemos enfatizar ainda que esta inter-relação entre os diferentes grupos de pesquisa é resultado do enfoque multidisciplinar do projeto, envolvendo aspectos de epidemiologia genética, parasitológicos, sócio-econômicos e de biologia molecular. Esta interação interinstitucional certamente permitirá dar uma maior qualificação ao nosso pessoal e sobretudo propiciará a transferência de métodos e tecnologia de ponta, necessários para que este Laboratório possa implementar novas linhas de pesquisa.

Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos

Dos estudos sobre a variabilidade genética de microrganismos realizados pelo Laboratório, que implicam em múltiplas abordagens, sejam elas epidemiológicas, evolutivas ou diagnósticas, espera-se não só a geração do conhecimento científico, mas também resultados que venham a contribuir para a melhoria da saúde de nossas populações brasileiras.

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
CHEFE: *Maria da Graça Dutra*

LABORATÓRIO DE EPIDEMIOLOGIA DE MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS
CHEFE: *Maria da Graça Dutra*

Eduardo Enrique Castilla	Pesquisador Visitante/CNPq
Maria da Graça F. Pereira Dutra	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE GENÉTICA HUMANA
CHEFE: *Pedro Hernán Cabello Acero*

Ana Hatagima	Pesquisador Visitante/Faperj
Pedro H. Cabello Acero	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE GENÉTICA MOLECULAR DE MICRORGANISMOS
CHEFE: *Ana Carolina Paulo Vicente*

Ana Carolina Paulo Vicente	Pesquisador Titular
Koko Otsuki	Pesquisador Visitante/Faperj
Thania Verginia Guaycurus	Pesquisador Adjunto

DEPARTAMENTO DE HELMINTOLOGIA

HISTÓRICO

As pesquisas helmintológicas em Manguinhos iniciaram-se com os trabalhos de José Gomes de Faria e de seu discípulo, Lauro Travassos, que publicaram, em 1914, uma monografia sobre ancilostomídeos parasitos do homem, lançando as bases dos estudos helmintológicos no Instituto Oswaldo Cruz (IOC) e fundando o laboratório que tornar-se-ia a futura Seção de Helmintologia.

Dentro do contexto das ciências biológicas e biomédicas no Brasil, as pesquisas helmintológicas destacam-se entre aquelas de maior tradição, tendo em vista o desenvolvimento de atividades contínuas nessa área, já a partir de 1913, por intermédio de Travassos que, com seus trabalhos pioneiros, criou a Escola Brasileira de Helmintologia, que o tornaria internacionalmente conhecido e considerado por seus pares como o mais proeminente helmintologista de sua época em todo mundo.

A influência de Travassos sobre seus discípulos e, conseqüentemente, sobre os seguidores destes, originou o caráter multidisciplinar que se espalhou pelas universidades do Brasil onde eles atuaram e atuam. Os pesquisadores atuais representam as segunda e terceira gerações daquela Escola Helmintológica e têm contribuído significativamente para os estudos dos helmintos.

Desde sua criação, até meados da década de 20, o atual Departamento foi designado, primeiramente, Laboratório de Helmintologia e, em 1926, Seção de Helmintologia, denominação conservada até meados da década de 70, quando passou a Departamento de Helmintologia, fazendo parte da Divisão de Zoologia Médica do IOC, constituído por três laboratórios e a Coleção Helmintológica. Os Laboratórios de Helmintos Parasitos de Vertebrados e o de Helmintos Parasitos de Peixes dão continuidade à Escola Helmintológica com vocação e especialização na taxonomia e sistemática de helmintos. O terceiro, Laboratório de Esquistossomose Experimental, tem como linha de pesquisa básica o estudo de antígenos protetores. Os laboratórios serão apresentados por ordem de surgimento na Instituição.

Atualmente, os pesquisadores do Departamento dão prosseguimento às linhas de trabalho anteriormente estabelecidas, mas procurando modernizar suas pesquisas, tornando-as competitivas e com padrão adequado à atualização científica que é regida pelas diretrizes aplicadas às diferentes especialidades, proporcionando assim, um maior intercâmbio intra e interinstitucional.

Com relação às atividades docentes, o Departamento participa, sob a forma de coordenação de disciplinas, nos cursos de pós-graduação e cursos técnicos oferecidos pela Fiocruz.

As diferenças vocacionais entre os três laboratórios, onde trabalham pesquisadores do quadro permanente, visitantes, doutorandos, mestrandos, bolsistas de iniciação científica e estagiários, dão ao Departamento um caráter multidisciplinar, harmonioso e extremamente produtivo, tendo uma média de dois artigos científicos publicados em revistas indexadas por pesquisador/ano.

Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados

A história do Laboratório se confunde com a própria história do Departamento e com a Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC).

O acervo helmintológico inicial foi obtido através de trabalhos de campo, principalmente pelos pesquisadores Adolpho Lutz e Gomes de Faria, este último responsável por 90% da determinação do acervo, que compreende o resultado de necrópsias efetuadas entre 1907-1916. Todo o acervo está depositado na CHIOC. No final da segunda década, helmintos oriundos de instituições como o Instituto Pasteur de São Paulo e o Instituto Bacteriológico foram incorporados à CHIOC, após terem sido objeto de estudo de Lauro Travassos e resultarem em duas publicações, em 1917.

Na década de 40, Herman Lent e Teixeira de Freitas fizeram a incorporação da Coleção de Pedro Severiano de Magalhães, da Escola Baiana de Medicina, à CHIOC. Além dessas coleções, alguns helmintos do Museu Paulista e do Instituto Butantan foram objeto de estudos e estão depositados na CHIOC.

Com a morte de Adolpho Lutz sua coleção particular de helmintos foi doada por sua filha, Bertha Lutz, para inclusão na CHIOC. Da coleção particular de Digenea (América Central) de J. S. Sitko, alguns espécimens foram doados e incorporados à CHIOC no final da década de 90. Durante sua existência, a CHIOC esteve sob a responsabilidade de Lauro Travassos, Teixeira de Freitas, Delir Corrêa Gomes, Henrique de Oliveira Rodrigues e Dely Noronha.

A CHIOC é a maior coleção de helmintos da América do Sul e está, também, entre as maiores coleções de referência internacional; é constituída, até o momento, de 34.300 amostras, tendo sido indexada no *A Guide to the Parasite Collections of the World*, com atestado de que a coleção teve sua origem em 1907 com Gomes de Faria e Lauro Travassos. É constituída, em sua maior parte, por helmintos do Brasil e de outros países da América do Sul, embora constem de seu acervo representantes de todos os continentes. É uma coleção de grande biodiversidade, atingindo, no Brasil, os seguintes ecossistemas: Floresta Amazônica, Mata Atlântica, cerrado, pantanal, urbano, águas continentais e marinhas. Além disso, possui parasitos de animais em extinção, principalmente do Brasil. Na década de 90 foi iniciada a informatização e modernização do acervo da coleção, com cerca de 22.000 fichas (amostras) incluídas neste processo.

Contracaecum pelagicum. Extremidade anterior, vista frontal. Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados

Tendo por finalidade a obtenção de material helmintológico para a pesquisa, inúmeras foram as excursões científicas direcionadas ao interior e ao litoral do Brasil, desde o início do século (1906), quando Oswaldo Cruz vai a Itatinga, SP, para intensificar o combate à malária naquela região, e convida Gomes de Faria para acompanhá-lo, aproveitando a oportunidade para coletar helmintos. No mesmo ano Travassos, incentivado por Gomes de Faria, inicia uma série de excursões em Angra dos Reis. Em 1910, Gomes de Faria inicia as coletas na Região Nordeste, indo aos estados do Ceará e do Piauí. Travassos inicia, em 1915, as viagens, para a Região Sul. Em 1922, Travassos, juntamente com Cesar Pinto e Júlio Muniz, dão início a uma série de excursões ao Pantanal. A região Amazônica também foi alvo da coleta de helmintos; em 1910, Oswaldo Cruz coletou os primeiros ali encontrados e, em 1912, Carlos Chagas aumenta esse acervo. Ainda naquela região, Travassos realiza, em 1927, a primeira viagem como pesquisador da recém-criada Seção de Helmintologia. As únicas excursões ao exterior foram as realizadas, na década de 40, ao Paraguai e Uruguai, por Teixeira de Freitas e Lent.

Lauro Travassos desenvolveu a helmintologia e formou discípulos como Teixeira de Freitas, Herman Lent, César Pinto, Machado Filho, Zeferino Vaz, Dobbin Jr., Jayade Machado de Mendonça e Hélio Martins. As metas originais do Laboratório foram mantidas e ampliadas. Entre 1907-1913 Gomes de Faria publica, na linha da sistemática helmintológica, trabalhos sobre digenéticos, nematóides e pentastomídeos. Adolpho Lutz direciona suas investigações para a caracterização das formas larvares e ciclos dos digenéticos, entre eles o *Schistosoma mansoni*. Trabalhos visando à reunião de espécies sob a forma de catálogos ou revisão de famílias, começam a aparecer, também em meados da segunda década, quando uma nota prévia foi publicada por Travassos (1915). Ainda na década de 20, Luiz Vianna faz o primeiro catálogo de Trematoda, a partir de sugestão de Travassos.

Em 1950, Travassos publica um livro geral sobre helmintologia. Na década de 60 o próprio Travassos faz um inventário faunístico dos cestóides brasileiros e publica, com Teixeira de Freitas e Anna Kohn, o segundo catálogo de trematódeos *sensu lato*, com figuras. Na década de 70 levantamentos da fauna de helmintos parasitos de animais da biota aquática são feitos por Amilcar Arandas Rego, Delir Corrêa Gomes, Dely Noronha, Joaquim Júlio Vicente e Roberto Magalhães Pinto, resultando em quatro capítulos dentro da publicação *Aquatica Biota of Tropical South America*. Na década de 80 inicia-se a publicação do catálogo de nematóides do Brasil de Vicente e colaboradores (1985-1997). A atualização do catálogo de nematóides parasitos de peixes foi feita por Vicente e Pinto (1999). Rego, em 1991, foi responsável pelo capítulo de Proteocephalidea no livro *Key to Cestodes Parasites of Vertebrates* e, em andamento, estão sendo escritos capítulos no livro *Parasitologia Veterinária* pelos pesquisadores do Laboratório: Delir Corrêa Gomes, Luís C. Muniz-Pereira e Rosângela Rodrigues e Silva.

Laboratório de Esquistossomose Experimental

A história do Laboratório é bem antiga, datando sua estruturação e consolidação de 1975. Nessa ocasião, situava-se no antigo Instituto de Endemias Rurais (Ineru, Núcleo Central de Pesquisas, Jacarepaguá, RJ); com incentivo e suporte do então diretor foi transferido para o Departamento. Essa migração foi ancorada, basicamente, em três condições: 1) espaço físico individualizado dentro do Departamento: a montagem do Laboratório demandou espaço físico específico para instalação de moluscário, biotério experimental, ciclo biológico do *S. mansoni* e demais setores; 2) recursos humanos, equipamentos e materiais: para a criação do Laboratório, o então diretor do Ineru, cedeu pessoal, equipamentos e todo o material necessário. Na ocasião vieram freezers, geladeiras, centrífugas e balanças, bem como aquários, gaiolas, vidrarias e móveis. Foram cedidos também funcionários (técnicos, bioteristas e secretária) com experiência prévia. Alguns, como Jair Sanches e Nilda V. Pereira ficaram no Laboratório até sua aposentadoria. Vieram também, Hélio Nunes de Oliveira e Hermínia Victoria Coelho Santos. Do Departamento recebemos Roberto Magalhães Pinto; 3) o terceiro eixo que suportou a criação do Laboratório e sua manutenção até os dias atuais, foi uma linha de trabalho bem definida, com projetos objetivos direcionados, desde o início, para o estudo de antígenos protetores do *S. mansoni*, com vistas ao desenvolvimento de uma vacina contra a esquistossomose e seu imunodiagnóstico.

De 1975 até 1987, o Laboratório trabalhou, sob a coordenação de Mirian Tendler, com uma mistura de antígenos denominados "SE" cujo processo de isolamento foi desenhado objetivando a obtenção de antígenos imunoprotetores relevantes oriundos, principalmente, de parasitas adultos. A proteção foi bem caracterizada, permitindo que se estudasse, com maior profundidade, parâmetros importantes para a modulação de proteção na infecção pelo *S. mansoni*. Foram estabelecidos e estudados modelos animais para a fase experimental do desenvolvimento de vacina parasitária anti-helmíntica, foco de interesse do Laboratório. A partir de 1985 o Laboratório começou a aceitar estudantes de mestrado.

Em 1987, a partir da ida de Mirian Tendler para o Marine Biological Laboratory, iniciou-se a "fase molecular" do projeto. Com as facilidades do local e utilizando os soros imunes levados do Laboratório, iniciou-se a caracterização molecular dos componentes do extrato "SE". Vários antígenos foram clonados e caracterizados. Outros foram trazidos de volta para o Laboratório, para caracterização posterior. Dentre estes últimos, estava o clone do Sm14 que expressa proteína de 14.7 Kda, cuja seqüência de aminoácidos, obtidos em parceria com o Laboratório de Biologia Molecular da Heidelberg University (Alemanha), indicou sua homologia com as Fatty Acid Binding Proteins (FABPs). A colaboração com a Alemanha durou aproximadamente três anos e teve suporte da agência alemã DAAD. Os trabalhos sobre a identificação da FABP do *S. mansoni* e a demonstração de sua propriedade bioquímica foram publicados em 1991.

A acentuada atividade protetora do Sm14 foi demonstrada posteriormente com a sua expressão no sistema pGEMEX (fusão com a proteína do gene 10 do bacteriófago T7). Com este sistema, foram reproduzidos com o r-Sm14 dois modelos animais não singênicos (coelho e camundongo Sw) que reproduzem a atividade protetora do "SE".

Em paralelo, demonstrou-se a atividade vacinante protetora do rSm14 contra a infecção pela *Fasciola hepatica*, trematódeo causador da fasciolose hepática, responsável por doença veterinária do gado, de grande relevância na veterinária pelas enormes perdas econômicas que acarreta para os países pecuaristas. Os dados acima só foram publicados em 1996 e foram objeto das patentes requeridas pela Fiocruz para o rSm14, como base molecular para

Armário com frascos contendo espécimens em meio líquido. Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz

uma vacina anti-helmíntica bivalente.

Em 1994, o rSm14 havia sido selecionado pela OMS, como um dos seis antígenos prioritários para o desenvolvimento de uma vacina contra a esquistossomose.

Com relação à proteção da propriedade industrial dos direitos sobre o Sm14, a Fiocruz depositou pedidos de patentes em dez países entre os anos de 1994/1995. Alguns processos demandaram questionamentos e defesas exaustivas, culminando com a concessão, entre 1997/1998, de oito patentes para o r Sm14. Acresce, ainda, outra condição do processo de patenteamento, que é a impossibilidade da publicação dos resultados subseqüentes, por risco de comprometer a patenteabilidade do antígeno.

Os resultados gerados pelos projetos do Laboratório, com o Sm14, permitiram também que fosse consolidado o desenvolvimento de outro produto, a vacina veterinária contra a fasciolose, que é objeto de acordo de cooperação entre a Fiocruz e a empresa australiana CSL Ltd., para os testes de vacinação em carneiros e posterior produção da vacina veterinária.

As etapas em andamento no Laboratório se concentram nos testes controle das preparações do Butantan e depois da CSL e na continuação das pesquisas com peptídeos sintéticos desenhados e obtidos para seqüências da molécula do Sm14, focalizando seus epítopos relevantes para a atividade protetora do Sm14 em colaboração com o Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, Projeto Pronex no. 769710440 e com o Departamento de Biofísica, da Escola Paulista de Medicina.

Ao longo dos últimos dez anos, o Laboratório recebeu aproximadamente quinze estudantes entre iniciação científica, aperfeiçoamento profissional, mestrado e doutorado. A equipe atual de técnicos, auxiliares e administrativos integrados ao grupo tem prestado colaboração em todas as atividades do Laboratório, que incluíram e incluem a organização de dois simpósios internacionais de esquistossomose, quatro reuniões nacionais dos pesquisadores da Fiocruz em esquistossomose e todos os projetos em andamento.

A coordenação do projeto para desenvolvimento da vacina parasitária nos permitiu escolher e estabelecer as interações necessárias ao bom andamento do projeto em todos os seus aspectos multidisciplinares, os quais decidimos, desde cedo, não tentar estruturar, mas sim buscar através de colaboração com grupos de competências específicas. Desta forma, o Laboratório teve o privilégio de contar com parcerias científicas extremamente produtivas e enriquecedoras com o saudoso Prof. Antônio Oliveira Lima (Fundação Ataulpho de Paiva, RJ), com Wilson Savino, do Departamento de Imunologia, e com o Centro de Pesquisas René Rachou-Fiocruz, principalmente com Naftale Katz, coinventor das patentes para o Sm14. Para os aspectos da biologia molecular, além da colaboração inicial com a Heideberg University (Mo Klinklert), houve a colaboração de Andrew Simpson também coinventor das patentes para o Sm14 e responsável pelas expressões do Sm14 no sistema que permitiu a demonstração da atividade protetora do Sm14. Os ensaios de vacinação experimental contra a *F. hepatica* foram realizados com o apoio da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Armário com lâminas em montagem definitiva. Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz

Laboratório de Helmintos Parasitos de Peixes

O Laboratório foi oficializado em abril de 1991 para um pequeno grupo de pesquisadores liderados por Anna Kohn que já se dedicava ao estudo dos parasitas de peixes desde 1961.

A partir do credenciamento do Laboratório, foram publicados 29 trabalhos originais, dos quais catorze em revistas es-

trangeiras e quinze em revistas nacionais; foram apresentados 49 trabalhos em congressos e reuniões científicas, dos quais dezesseis em congressos internacionais, além da realização e defesa de duas teses de mestrado, duas de doutorado e orientação de estagiários.

O Laboratório mantém colaboração com pesquisadores de outras instituições na Inglaterra e na República Tcheca.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados

Tendo em vista a enorme biodiversidade com a qual se depara no estudo da fauna helmintológica e dos diversos parâmetros passíveis de análise envolvendo parasitos e hospedeiros, o Laboratório procura desenvolver investigações de modo a contribuir para um melhor conhecimento dos diferentes mecanismos que modulam a infecção parasitária, além de divulgar dados sobre: 1) correlação entre infecções por helmintos nos diferentes vertebrados, com ênfase em aspectos relacionados às zoonoses e reservatórios de helmintos potencialmente patogênicos; parâmetros biológicos, morfológicos, taxonômicos, sistemáticos e ecológicos; interação entre hospedeiros, parasitas e ambiente; identificação de possíveis mecanismos de parasitismo por helmintos em ecossistemas definidos; 2) manutenção, modernização, informatização e ampliação da CHIOC, visando ao aumento de sua capacidade de preservação e atendimento.

Dentro desses conceitos, são desenvolvidos projetos que deram a oportunidade de se introduzir, no Laboratório, novas abordagens e novas técnicas.

Os trabalhos sobre taxonomia e sistemática de helmintos, de uma certa forma evoluiram qualitativamente; as discussões foram se tornando mais detalhadas e novas metodologias indispensáveis puderam ser gradativamente assimiladas e introduzidas como microscopia eletrônica de varredura e laser confocal. Assim, foi possível investigar diversos aspectos sobre a morfologia e a biologia do *S. mansoni*, a primeira através de técnicas que forneceram dados até então desconhecidos, e a segunda com o auxílio de isótopos radioativos que elucidaram os mecanismos de migração do parasito no hospedeiro definitivo.

Ainda com relação à sistemática, foram elaborados catálogos de nematóides parasitos de vertebrados do Brasil, reunidos em cinco volumes referentes aos parasitos de peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, totalizando 1.025 espécies parasitas. Esses inventários são de valor científico indiscutível, de grande impacto entre os especialistas da área, bem como universitários e alunos de pós-graduação, visto o teor de informação neles contido, que incluiu histórico completo sobre os grupos, diagnose de superfamílias, famílias e gêneros, listagem de espécies que ocorrem no Brasil, sua morfometria, figuração, hospedeiros e distribuição geográfica, além de chaves para sua identificação sistemática dentro das organizações propostas, seguidas de completo levantamento bibliográfico que engloba publicações a partir do século XIX até as mais recentes.

Além dos nematóides, outro grupo de interesse é o de cestóides, principalmente os proteocefalídeos que vêm sendo catalogados sistematicamente e fazem parte de um capítulo de livro, referente às chaves de determinação de cestóides parasitos de vertebrados, organizado e editado na Inglaterra.

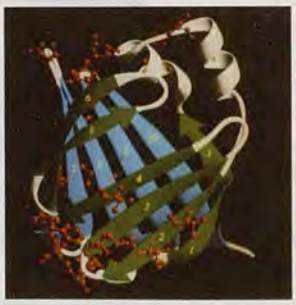
Como uma outra abordagem de classificação sistemática helmintológica, vem sendo desenvolvido um projeto direcionado à proposição de um novo arranjo sistemático para um grupo de Digenea através da classificação por análise cladística.

Além disso, foram estabelecidas no Laboratório metodologias direcionadas à abordagem molecular no diagnóstico da hidatidose e da dirofilariose, com aplicação no atendimento de solicitações por parte de instituições públicas e privadas, para obtenção ou confirmação de diagnósticos.

Cabe salientar que encontram-se em andamento estudos sobre histopatologia parasitária causada por helmintos, com ênfase na anatomia patológica.

Tem sido dada continuidade às investigações sobre a fauna hemintológica de animais de laboratório, provenientes de vários biotérios institucionais brasileiros, quando se avalia, qualitativa e quantitativamente, a carga parasitária desses animais que são utilizados no desenvolvimento de vários protocolos experimentais. Esse projeto encontra-se em andamento, para que, na presente fase se estabeleça a caracterização antigênica inerente às espécies parasitárias desses hospedeiros.

Laboratório de Esquistossomose Experimental



Tem como linha básica de atuação o desenvolvimento de vacina anti-helmíntica multivalente, que está em fase final de desenvolvimento, direcionada, inicialmente, para duas helmintoses. A infecção humana causada pelo *S.*

mansoni, é de grande importância social devido à magnitude da esquistossomose no Brasil e no mundo. A vacina humana está em fase final de formulação para a preparação dos lotes do Sm14 em GMP (*Good Manufacturing Practices)* destinados aos testes clínicos de fase I, de acordo com a OMS, e em colaboração com o Instituto Butantan, que está encarregado da expressão e produção das amostras em GMP, que estão sendo testadas e validadas no nosso Laboratório, em dois modelos animais: camundongo e coelho.

O segundo eixo de trabalho concentra-se na finalização da vacina veterinária contra fasciolose. A produção do r-Sm14, purificado em novas expressões, também tem a colaboração do Instituto Butantan e os testes estão sendo realizados, no nosso Laboratório, em camundongos e em coelhos; na Universidade Federal de Santa Catarina, em carneiros e na CLS Ltd. (Austrália), em protocolos ampliados, também em carneiros. O protocolo em andamento na CSL está sendo conduzido sob orientação do nosso Laboratório e da CSIRO Animal Health (Austrália).

Também estão em prosseguimento estudos de peptídeos do r-Sm14, em fase de publicação de resultados iniciais e mapeamento de epítopos envolvidos com a resposta imune específica, em colaboração com o Instituto de Física da Universidade de São Carlos.

Estudos do Sm14 em BCG, em diferentes sistemas de expressão, estão sendo desenvolvidos em colaboração com Biomanguinhos, Instituto Butantan, Universidade de Pelotas, Instituto de Biotecnologia na Argentina, Universidade de Surrey, Instituto Pasteur e Centro Nacional de Diagnóstico.

Estudos de imunolocalização do r-Sm14 em vermes adultos machos e fêmeas de *S. mansoni* e de outros helmintos estão também sendo desenvolvidos.

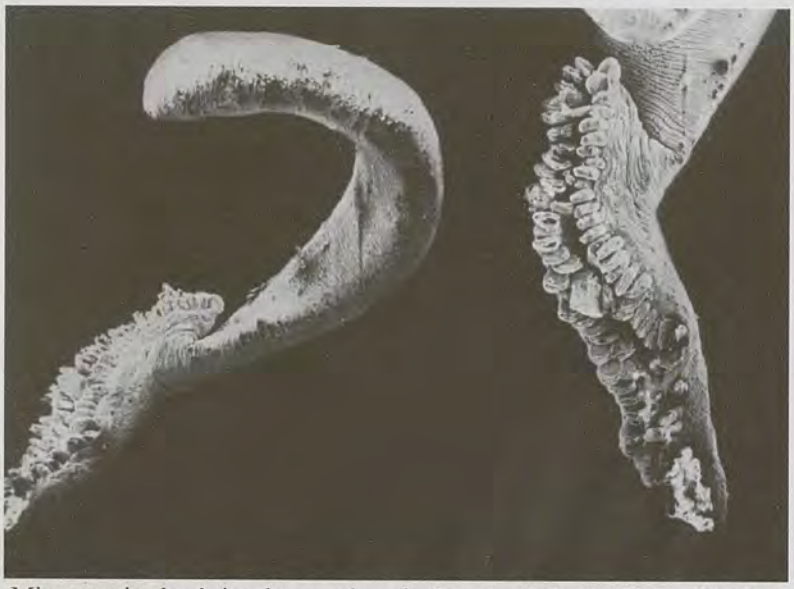
Laboratório de Helmintos Parasitos de Peixes

A principal linha de pesquisa do Laboratório é o estudo dos helmintos parasitas de peixes de interesse econômico, que abrange os seguintes projetos:

Estudo do parasitismo por helmintos em peixes de açudes e reservatórios de usinas hidrelétricas e em suas águas naturais – Estão sendo realizadas pesquisas em peixes do reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu e do rio Paraná nas localidades de Foz do Iguaçu, Guaíra e Santa Helena, que já resultaram na publicação de numerosos trabalhos com descrições de gêneros e espécies novas, além de novos hospedeiros e de novas ocorrências de parasitas de peixes no Brasil. Foram realizadas duas excursões para exame dos peixes dos viveiros do Centro de Pesquisas Rodolfo von Ihering e do Açude Pereira de Miranda, do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas, em Pentecoste, Ceará, ampliando o conhecimento do parasitismo dos peixes em regiões do país ainda não pesquisadas. Considerando que, segundo o Plano Nacional de Energia Elétrica 1987/2010, elaborado pela Eletrobras (1987), existem no Brasil cerca de 180 grandes represas hidrelétricas e que somente poucas foram analisadas, fica demonstrada a importância deste projeto para o conhecimento da parasitofauna dos peixes de reservatórios.

Estudos ultra-estruturais do tegumento e do aparelho reprodutor de helmintos parasitas de peixes – Estudos pela microscopia eletrônica de varredura e de transmissão de diferentes espécies de Monogenea, Digenea e Nematoda estão sendo realizados no Laboratório, abrindo um novo campo de pesquisa, ainda pouco explorado em nosso país.

Taxonomia de Nematoda e Digenea parasitas de peixes do litoral do Rio de Janeiro – A finalidade deste projeto é identificar as espécies destes grupos de helmintos e analisar a prevalência e a intensidade de infecção.



Microscopia eletrônica de varredura de *Paranaella luquei* Kohn, Baptista-Faria & Cohen, 2000: total, extremidade posterior

Estudo dos helmintos parasitas de diferentes espécies de atuns de interesse comercial – Seis diferentes espécies de atuns provenientes do litoral do Rio de Janeiro, amplamente utilizados na indústria alimentícia e atualmente muito consumidos sem cozimento em sushis e sashimis, estão sendo examinadas para identificação dos parasitas e possível potencial zoonótico.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados

Considerando as investigações que vêm sendo desenvolvidas, o Laboratório objetiva o aprimoramento de novas tecnologias para a identificação de helmintos parasitos de vertebrados, visando abordagens atualizadas no que se refere à biologia desses agentes e à interação parasita/hospedeiro, com reflexo nas atividades científicas básicas e aplicadas, incluindo orientações em áreas de pós-graduação.

Laboratório de Esquistossomose Experimental

A vacina humana está em fase final de formulação para a preparação dos lotes do Sm14 em GMP (*Good Manufacturing Practices*) destinados aos testes clínicos de fase I, de acordo com a OMS, e em colaboração com o Instituto Butantan, que está encarregado da expressão e produção das amostras em GMP que estão sendo testadas e validadas no Laboratório, em dois modelos animais: camundongo e coelho.

O segundo eixo de trabalho concentra-se na finalização da vacina veterinária contra fasciolose. Os testes estão sendo realizados em camundongos e coelhos, na Universidade Federal de Santa Catarina, e na CSL Ltd (Austrália) em carneiros.

Também estão em andamento, estudos de peptídeos do r-Sm14, estudos do Sm14 em BCG em diferentes sistemas de expressão e estudos de imunolocalização do r-Sm14 em vermes adultos machos e fêmeas de *S. mansoni* e de outros helmintos.

Laboratório de Helmintos Parasitos de Peixes

O Laboratório dará continuidade aos seus projetos com a realização de novas coletas em diferentes épocas do ano nos reservatórios já estudados e em outros ainda não pesquisados; à orientação de teses de pós-graduação e de bolsistas e estagiários, contribuindo para a formação de novos pesquisadores; e à consultoria a instituições e revistas nacionais e estrangeiras bem como manterá e ampliará as colaborações com outras instituições científicas.

DEPARTAMENTO DE HELMINTOLOGIA
CHEFE: *Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire*

LABORATÓRIO DE HELMINTOS PARASITOS DE VERTEBRADOS
CHEFE: *Dely Noronha de Bragança Magalhães Pinto*

Amilcar Arandas Rego	Pesquisador Titular
Delir Corrêa G. M. da Serra Freire	Pesquisador Titular
Dely Noronha de B. Magalhães Pinto	Tecnologista
Joaquim Júlio Vicente	Pesquisador Titular
Luis Cláudio Muniz Pereira	Assistente de Pesquisa
Roberto Magalhães Pinto	Pesquisador Titular
Rosângela Rodrigues e Silva	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL
CHEFE: *Miriam Tendler*

Marília Sirianni dos S. Almeida	Pesquisador Adjunto
Miriam Tendler	Pesquisador Titular
Mônica Magno Vilar	Assistente de Pesquisa

LABORATÓRIO DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES
CHEFE: *Anna Kohn Hoineff*

Anna Kohn Hoineff	Pesquisador Titular
Antonia Lucia dos Santos	Tecnologista
Berenice Maria Fernandes de Lima	Pesquisador Titular
Maria de Fatima Diniz Baptista Farias	Pesquisador Adjunto
Simone Chinicz Cohen	Assistente de Pesquisa

DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA

HISTÓRICO

O Departamento foi oficialmente criado em 1 de abril de 1980, pelo Ato no. 29/80 da presidência da Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz. É dirigido por um chefe de departamento escolhido por seus pares, homologado pelo Conselho Deliberativo do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), e nomeado pelo presidente da Fiocruz. A chefia é assessorada por um Conselho Departamental formado pelos chefes de laboratório e demais pesquisadores, e ainda por representantes eleitos dos alunos de pós-graduação e do pessoal de apoio técnico-administrativo.

Do ponto de vista estrutural permaneceu, até 1985, como uma única equipe que, sob a chefia de Bernardo Galvão Castro Filho, constituiu as bases temáticas e condições de infra-estrutura que possibilitaram o crescimento do Departamento. Devemos ressaltar o importante financiamento obtido junto à OMS, que permitiu a aquisição de equipamentos de grande porte, e ainda a política de contratação de pessoal qualificado, privilegiada pelo quadro dirigente da Fiocruz, do IOC e do Departamento durante suas fases de implantação e consolidação.

A partir de então, e já contando com vários pesquisadores seniors, o Departamento optou por uma organização estrutural na forma de laboratórios, que são setores que possuem equipes, linhas de pesquisa e financiamentos próprios e que interagem propulsionando um desenvolvimento global. Todos os laboratórios do Departamento obtiveram o respectivo credenciamento ou recredenciamento.

Os laboratórios vêm empregando uma variedade de métodos e técnicas como, por exemplo, isolamento e cultivo de agentes patogênicos e células de mamíferos; purificação e isolamento de proteínas; detecção imunoquímica de proteínas através de métodos imunoenzimáticos (ELISA), imunorradiométricos e imunocitoquímicos, imunodifusão em gel, immunoblotting e imunoprecipitação; tipagem celular por citometria de fluxo utilizando um, dois ou três fluorocromos; análise de fluxo de cálcio; análise de apoptose; produção de anticorpos monoclonais; detecção de genes ou transcritos através de sondas moleculares; seqüenciamento gênico e ainda diversas técnicas clássicas aplicadas em imunologia humoral e celular.

As atividades dos diversos laboratórios do Departamento geraram uma apreciável produção científica que foi sempre desenvolvida em consonância com uma política de formação de recursos humanos. Assim, se tomarmos o período de 1994 a 1999, foram publicados cerca de 260 artigos científicos em periódicos indexados e defendidas trinta teses de mestrado e treze de doutorado. Além disso, foram publicados vários capítulos de livro e artigos de divulgação científica.

Cabe ainda salientar que, não obstante a composição setorizada em laboratórios, o Departamento possui estruturas comuns como secretaria, setor de esterilização, setor de equipamentos de grande porte e setor de radioisótopos.

Laboratório de Aids e Imunologia Molecular

Um laboratório voltado à pesquisa em HIV/Aids foi instalado em 1985, no Departamento, sob a coordenação de Bernardo Galvão-Castro. A partir de 1990, com o estabelecimento do sistema de credenciamento de laboratórios do IOC, foi estruturado o atual Laboratório tendo como chefe Mariza Morgado e subchefe Vera Bongertz.

Atualmente, o Laboratório conta com uma equipe de três pesquisadores doutores, um tecnologista (mestre), três técnicos e diversos estudantes de iniciação científica, aperfeiçoamento, mestrado, doutorado e do curso técnico do IOC.

O Laboratório tem se caracterizado por estudos voltados à avaliação da diversidade de amostras brasileiras de HIV, da resposta imune a elas direcionada e às implicações desta diversidade no desenvolvimento e testagem de vacinas anti-HIV e reagentes para a detecção viral, assim como na patogênese e na susceptibilidade à terapia anti-retroviral e na transmissibilidade do HIV, e por estudos sobre a imunopatologia da Aids e da sua associação com outras infecções prevalentes em nosso meio.

Em março de 1993, o Laboratório participou da elaboração da Rede Nacional sobre o Isolamento e

Caracterização do HIV-1 no Brasil, congregando pesquisadores de diversas instituições nacionais, e foi selecionado como participante ativo na caracterização antigênica e molecular do HIV-1, com o apoio do então Programa Global de Aids da Organização Mundial da Saúde (atual Unaids) e da Coordenação de DST e Aids do Ministério da Saúde (CN-DST/AIDS/MS). Esta Rede Nacional foi formada para dar respaldo ao Programa Nacional de Vacinas Anti-HIV/Aids do Ministério da Saúde, parcialmente subvencionado pela OMS; no período de 1995-1997, participamos em um ensaio clínico de avaliação da toxicidade e imunogenicidade de uma vacina anti-HIV/Aids, numa colaboração entre equipes da Fiocruz e da Universidade Federal de Minas Gerais.

Entendendo que o desenvolvimento de pesquisa em HIV/Aids não poderia ocorrer sem uma estreita colaboração com a clínica e que os pacientes infectados pelo HIV deveriam se beneficiar dos avanços tecnológicos disponíveis à pesquisa em nossa Instituição, desde 1990 iniciamos a avaliação do perfil imunológico de indivíduos infectados pelo HIV, acompanhados no Hospital Evandro Chagas, através da tipagem de subpopulações de linfócitos T por citometria de fluxo, no âmbito do Programa Institucional de Aids da Fiocruz (Piaf). A partir de 1997 esta atividade, em associação com a quantificação da carga viral plasmática, foi assumida pela CN-DST/AIDS/MS através das Redes de CD4 e Carga Viral, onde nosso Laboratório atua não só na execução destes serviços oferecidos à Fiocruz e outras instituições do Rio de Janeiro, como participou intensamente junto à CN-DST/AIDS/MS na discussão e elaboração destas redes.

Quanto ao desenvolvimento tecnológico, o Laboratório é colaborador do projeto coordenado por Farmanguinhos, que visa avaliar o efeito de drogas anti-retrovirais na inibição da protease do HIV-1, além de ter potencial instalado para implementar a produção de anticorpos monoclonais capazes de identificarem as subpopulações de linfócitos T CD4+ e CD8+, de forma a reduzir os custos destes exames.

Na área de divulgação científica, em 1995 e 1997 participamos da organização do Primeiro e Segundo Simpósios Brasileiros de Pesquisa Básica em HIV/Aids, ambos de cunho internacional, congregando pesquisadores nacionais e estrangeiros.

A formação de recursos humanos é também uma de nossas principais atividades, com um número crescente de teses de mestrado e doutorado defendidas e em desenvolvimento.

Ao longo de sua existência, o Laboratório tem tido o suporte do Piaf, do Papes/Fiocruz, do CNPq, da Faperj, da Unaids e da CN-DST/AIDS/MS.

No seu conjunto, as atividades do Laboratório voltadas para pesquisa, ensino e realização de serviços encontram-se inter-relacionadas, permitindo, assim, um melhor aproveitamento dos recursos envolvidos nestas atividades, o incremento na formação de pessoal e a ampliação da produção científica.

Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos

Este grupo existe desde 1994 como Núcleo de Bioquímica de Tripanossomatídeos, tendo sido credenciado como Laboratório a partir de 1998. Durante esses anos vêm sendo desenvolvidas pelo grupo duas linhas de pesquisa: 1) o estudo *in vitro* do ciclo evolutivo de *Leishmania*: uma visão bioquímica do processo diferenciativo; e 2) o estudo de drogas potencialmente tripanocidas.

Laboratório de Imunologia Clínica

O Laboratório foi credenciado em junho de 1994, logo após a cessão de Luiz Roberto Ribeiro Castello Branco à Fiocruz em janeiro daquele ano.

Com recursos financeiros captados da Fundação Banco do Brasil e do Wellcome Trust iniciamos quatro linhas de pesquisa: 1) resposta imunológica humana à imunização oral com BCG Moreau no Rio de Janeiro; 2) avaliação da resposta imunológica de mucosa em pacientes com Aids; 3) estudo de sobrevida de pacientes marginalizados com Aids; 4) estudo de antígenos do *Trypanosoma cruzi*.

As pesquisas clínicas sobre HIV/Aids eram realizadas em colaboração com o Ambulatório da Providência, onde pacientes eram vistos pelos pesquisadores/médicos do Laboratório. Essa colaboração entre Fiocruz (departamentos de Imunologia e Virologia e o CICT) e Ambulatório da Providência foi iniciada em 1985 através de Bernardo Galvão, Peggy Pereira, Helio Pereira, Euclides de Castilho, Luiz Roberto Castello Branco e Maria Inez Linhares de Carvalho; naquela época o Ambulatório era o braço clínico da pesquisa sobre prevalência do HIV e acompanhamento clínico em populações marginalizadas; esses dados eram utilizados pela CN-DST/AIDS/MS. A ênfase no acompanhamento clínico de pacientes e o contato com os mesmos por parte de toda a equipe do Laboratório foram incentivados desde a criação do mesmo.

Laboratório de Pesquisas em Imunidade Celular e Humoral em Protozooses

A origem do Laboratório remonta aos meados do ano de 1977, quando o grupo liderado por Sérgio G. Coutinho, assim como outros grupos da Escola Nacional de Saúde Pública, vieram para o IOC.

Naquela época eram poucos e continuaram na nova casa os estudos que vinham realizando sobre toxoplasmose e leishmanioses humanas, já que haviam adaptado o teste de imunofluorescência indireta, então uma grande novidade, para nossas condições. Foram descritos surtos epidêmicos de toxoplasmose humana e isolou-se o parasita da terra em áreas freqüentadas por gatos, levantando-se pistas sobre as fontes de infecção. Com a participação do Instituto Fernandes Figueira, avaliaram o risco de adquirir-se toxoplasmose congênita, a partir do estudo sorológico de recém-nascidos no Rio Janeiro. Na época eram feitos os testes diagnósticos para o Hospital Evandro Chagas, o que também originou publicações conjuntas.

A soroepidemiologia da leishmaniose no Rio de Janeiro foi também intensamente estudada; com isso foi dado um importante apoio, para a então Sucam, na identificação das áreas de maior prevalência da doença.

No início do ano de 1979 veio a oportunidade de Coutinho passar cerca de um ano e meio no WHO Reserch and Training Center, em Lausanne, Suiça, onde pôde trabalhar intensamente nas linhas de investigação sobre resposta imune mediada por linfócitos T na leishmaniose experimental murina. Aquele período foi fundamental para a futura evolução do Laboratório, porque permitiu a familiarização com técnicas de estudo da imunologia celular, fundamentais para as tentativas de elucidação da imunopatologia das leishmanioses. O período em Lausanne originou quatro publicações.

Quando do retorno ao Brasil, os métodos lá aprendidos no modelo camundongo foram, imediatamente, adaptados para o estudo em humanos. Conseguiram-se grants do programa TDR da OMS, o que facilitou a aquisição do material necessário para a nova linha de pesquisa então iniciada, sobre resposta imune mediada por linfócitos T, na leishmaniose tegumentar humana. No início de 1981 já tínhamos as primeiras culturas de linfócitos T no IOC. Assim o Laboratório foi sendo instalado com o correr dos anos, com o constante apoio das várias diretorias do IOC, além das agências brasileiras da fomento à pesquisa, como o CNPq e a Finep. Hoje temos um grant da Comunidade Econômica Européia.

Além dos métodos de cultura de linfócitos e macrófagos, introduzimos aqui as técnicas de diluições limitantes que permitiram uma análise em bases quantitativas das respostas mediadas por linfócitos T.

Em 1988, conseguimos um citômetro de fluxo, equipamento fundamental para análises multiparamétricas, célula por célula, de uma dada população celular. No final daquele ano já estávamos com o equipamento funcionando, o primeiro na América do Sul.

A qualidade do trabalho do Laboratório cresceu bastante. Os resultados obtidos vêm contribuindo para o conhecimento dos mecanismos envolvidos no agravamento, na cura e proteção da leishmaniose, mostrando o possível efeito benéfico de linfócitos CD8+ e um padrão de produção de citocinas do tipo 1. Esse dado pode ser importante, ao lado de outros, para a seleção de futuras vacinas.

Paralelo ao avanço do conhecimento, o Laboratório vem se preocupando com a formação de pessoal de bom nível científico. Dos vários mestres e doutores aqui formados, contribuímos para que quatro deles fizessem treinamento no exterior. O Laboratório tem estimulado a colaboração com outros grupos. Pesquisadores e estudantes estrangeiros vieram trabalhar aqui por vários meses.

O Laboratório cresceu muito; hoje somos seis doutores e um doutorando como membros efetivos, além de outros mestrandos e doutorandos sem vínculo empregatício.

A transferência do grupo para o Departamento foi uma medida que se impôs, naturalmente, pelo fato de as linhas de pesquisa do Laboratório versarem sobre imunologia de parasitoses, o que irá favorecer maior colaboração entre os cientistas e melhor troca das experiências adquiridas.

Laboratório de Pesquisas em Auto-imunidade e Imuno-regulação

O Laboratório, credenciado em 1998, está voltado para o desenvolvimento de pesquisa básica na área de imunologia, tendo como uma das suas principais preocupações a formação de recursos humanos voltados para a pesquisa em biologia experimental, buscando desenvolver nos estudantes a capacidade de criação, orientação e crítica. Esta preocupação se reflete na composição de seu quadro, composto por estudantes de pós-graduação (doutorado e mestrado), iniciação científica e curso técnico. Atualmente as questões conceituais que abordamos podem ser resumidas nas linhas de pesquisas desenvolvidas: mecanismos de gênese e regulação da resposta imune em doenças parasitárias e autoimunes; função da matriz extracelular, seus receptores e moléculas de adesão nos processos de ativação e migração de células presentes em infiltrados inflamatórios em doenças parasitárias e auto-imunes.

O Laboratório surgiu a partir do Núcleo de Auto-imunidade e Imuno-regulação criado em 1995. No

ano de 1996 obtivemos suporte financeiro e administrativo do IOC que nos proporcionou, junto com os recursos obtidos através dos projetos aprovados e financiados (CNPq e Papes-2-Fiocruz), a instalação de um laboratório que hoje é capaz de desenvolver atividades como cultivo celular (primário, resposta linfoproliferativa), ensaios de adesão e migração celular, imuno-histoquímica, ensaios imuno-enzimáticos, preparo de material para análise por citometria de fluxo e biologia molecular (PCR).

Entre 1996 e 1999 o nosso grupo de pesquisa recebeu estudantes de pós-graduação (mestrado e doutorado), o que proporcionou o aprofundamento da busca de respostas para as questões propostas através do estabelecimento de projetos em colaboração na Instituição e mesmo no exterior. Neste âmbito temos realizado intercâmbio de estudantes para a realização de diferentes projetos: fenotipagem celular por imuno-histoquímica e citometria de fluxo, caracterização da expressão de citocinas e quimiocinas no tecido cardíaco, nervoso e músculo esquelético nas infecções chagásica e toxoplásmica de animais geneticamente modificados, assim como o estabelecimento de bibliotecas de material genético de parasitos. Como resultado do reconhecimento de nossa contribuição para as pesquisas na área de biologia celular e imunologia, fomos escolhidos para organizar o 5° Simpósio Brasileiro sobre Matriz Extracelular-SIMEC98, que se realizou em Angra dos Reis. Também, recentemente recebemos dois Prêmios Carlos Chagas pela realização de pesquisas na área da doença de Chagas. Com estes incentivos, esperamos continuar contribuindo para a formação de recursos humanos com capacidade criativa e crítica, assim como desenvolvendo pesquisas que possam contribuir para o esclarecimento de questões relevantes na área das doenças parasitárias e auto-imunes.

Laboratório de Pesquisas em Leishmaniose

O Laboratório foi criado em outubro de 1978, quando Gabriel Grimaldi Jr foi contratado para chefiar o Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular. No período 1979-1984 foram desenvolvidos projetos com objetivos de estudar a patologia ultra-estrutural de leishmaniose em modelos experimentais e o emprego de marcadores imunológicos para o diagnóstico das leishmanioses.

Em 1985, o Laboratório foi transferido para este Departamento, onde foram desenvolvidos outros estudos, abordando com ênfase os seguintes aspectos: a) imunopatologia da leishmaniose tegumentar; b) produção de anticorpos monoclonais contra *Leishmania* e caracterização de antígenos específicos para uso imunodiagnóstico e proteção vacínica; c) caracterização de alterações moleculares (fatores de virulência?) em *Leishmania*, ocorridas durante a diferenciação celular *in vitro* e *Endotrypanum*, incluindo estudos de mapeamento geográfico de agentes etiológicos/epidemiologia molecular das leishmanioses nas Américas.

Em 1994, foi implantado o programa de estudos para testes de vacinas candidatas contra leishmaniose. Os estudos multidisciplinares (financiados por várias agências como NIH, OMS/TDR, Faperj) estão sendo realizados em colaboração com outros grupos no IOC e no exterior.

O Laboratório funciona como *WHO International Leishmania Reference Strain Center* (OMS/TDR, 1990), onde é mantido um Banco de *Leishmania* do Novo Mundo. O Banco é uma fonte importante de material (cepas referências) empregado na produção e testes de sondas moleculares. A coleção é fruto da colaboração com vários grupos de pesquisa na América Latina.

Nos últimos quinze anos, foram analisados mais de 3.000 isolados de *Leishmania* spp., procedentes de várias regiões endêmicas nas Américas. As informações relevantes (dados moleculares do parasita, quadro clínico-epidemiológico da doença) são processadas em microcomputadores, através de programas para análise sistemática de dados. As cepas são caracterizadas com a) anticorpos monoclonais (análise de serodemas); b) eletroforese de enzimas (zimodemas) e métodos complementares; c) análise do perfil de fragmentos de restrição do kDNA/nDNA (esquizodemas); d) cariotipagem molecular/mapeamento de genes em cromossomas; e) estudos de DNAs com sondas específicas (ensaios de PCR/hibridização). Com métodos de taxonomia numérica se estuda o grau de relação fenética/genética entre os organismos. Esse tipo de análise tem demonstrado elevada heterogeneidade populacional em *Leishmania*, além do mapeamento geográfico das leishmanias nas Américas.

Os resultados das pesquisas do Laboratório são publicados em periódicos científicos e apresentados em reuniões científicas nacionais e internacionais. Os pesquisadores participam em programas de formação de pessoal, lecionando em cursos e orientando teses.

Como membro do *Latin American Tropical Disease Research Training Consorcium*, o Laboratório coopera com outros grupos integrantes da rede, participando em projetos e programas de ensino comuns. O programa incentiva os alunos para o aprendizado de metodologias de ponta, promovendo o intercâmbio entre os pesquisadores do quadro.

Laboratório de Pesquisas em Malária

Em dezembro de 1983, sob a coordenação de Cláudio Tadeu Daniel Ribeiro, foi empreendida a tarefa de construir um grupo de pesquisas em malária com os seguintes objetivos: contribuir para o desenvolvimento da imunologia parasitária e da malariologia no Brasil formando recursos humanos em níveis médio e de pós-graduação e desenvolver pesquisas em imunologia e imunopatologia aplicadas à malariologia que permitissem gerar conhecimentos capazes de contribuir para a modificação, a médio ou longo prazo, da realidade local. Para alcançar tais objetivos foi adaptada a estratégia de desenvolver projetos de pesquisa preferencialmente envolvendo colaborações interinstitucionais e internacionais endossadas pelo apoio material de organismos nacionais ou do exterior e que permitissem, simultaneamente, a formação de recursos humanos em nível de pós-graduação.

Nesse contexto estão sendo desenvolvidas as seguintes linhas de pesquisa: 1) estudo da imunidade da malária em populações migrantes e indígenas da região Amazônica; 2) estudo do polimorfismo de genes e antígenos do *Plasmodium falciparum*; 3) estudo do controle genético da resposta imune antiplasmodial; 4) estudo dos mecanismos imunológicos envolvidos na patologia e na imunidade da malária; 5) desenvolvimento de modelos experimentais para estudos da patogenia, dos mecanismos de imunidade e de antígenos do *P. falciparum* candidatos a compor uma vacina antimalárica; 6) desenvolvimento de metodologia para o diagnóstico e a prevenção da malária pós-transfusional; 7) desenvolvimento/aplicação de modelos e metodologias para o estudo da quimiossensibilidade do *Plasmodium*.

Movidos pela preocupação de incentivar a pesquisa em malariologia no Brasil, organizamos, em 1986, o I Simpósio Internacional sobre Malária. É digno de nota o ritmo bianual com que têm ocorrido, desde então, as reuniões nacionais de pesquisa em malária, estando a realização da sétima prevista para 2000, no Rio de Janeiro, sob a coordenação do Laboratório. Cabe enfatizar a realização, em 1991, também no Rio, sob a coordenação do Laboratório, do IV Congresso Internacional sobre Malária e Babesioses. Da mesma forma, o compromisso com a formação de recursos humanos nos leva a coordenar (com Mariza Morgado) a cadeira de imunologia para a pós-graduação do IOC desde 1984 e o módulo de malária do curso de protozoologia desde 1994.

Os pesquisadores do Laboratório organizam, anualmente, um seminário (Seminário Laveran/Deane) destinado a estudantes em teses de mestrado e doutorado no qual algumas conferências separam sessões de apresentação e discussão dos projetos pelos próprios alunos, sob a supervisão de igual número (em torno de doze) de professores/instrutores. No ano 2000 será realizado o V Seminário Laveran/Deane.

O Laboratório vem atuando como centro prestador de serviços, através do diagnóstico de casos de malária fora de área endêmica, em assessoria a consultas de médicos locais e treinando pessoal da Fundação Nacional de Saúde regional e das Forças Armadas.

Laboratório de Pesquisas sobre o Timo

O Laboratório é oficialmente credenciado junto ao IOC desde 1990, embora já funcionasse como Laboratório independente a partir de 1986, quando do ingresso de Wilson Savino na Fiocruz. Desde então foram estabelecidas linhas de pesquisa como o papel da matriz extracelular na fisiologia do timo e o controle neuroendócrino sobre o timo.

Entre 1989 e 1990 foram incorporados dois pesquisadores ao Laboratório. Mais recentemente, outros dois foram incorporados no quadro da Fiocruz; com esse grupo novas linhas de pesquisa foram sendo criadas, interligando-se em alguns momentos. Com o crescimento do Laboratório, em número de pessoas e linhas de pesquisa, sentiu-se a necessidade de uma reflexão sobre os caminhos que deveriam ser tomados.

Em 1997, após a incorporação de dois pesquisadores ao Laboratório e com o crescimento numérico de pessoal e de projetos de pesquisa, realizamos um workshop no qual fizemos uma grande reflexão sobre o Laboratório, seus erros, seus acertos e ainda que rumos deveria tomar. No workshop cada estudante e pesquisador apresentou seus projetos e os respectivos resultados já obtidos. Uma análise crítica de cada projeto foi feita por dois pesquisadores especialmente convidados para atuarem como avaliadores externos. Para esse workshop foi produzido um livro de resumos, compreendendo um breve histórico do Laboratório e os resumos de cada apresentação. A análise feita pelos revisores mostrou claramente os seguintes pontos: a) apesar de grande, numericamente, o Laboratório deveria se manter coeso, decisão importante para a manutenção e melhoria da proficiência científica; b) novas metodologias, particularmente aquelas baseadas em técnicas de biologia molecular, deveriam ser incorporadas; c) urgência na expansão do espaço físico.

As diversas atividades sobre as quais vem sendo pautado o trabalho no Laboratório, se inserem no contexto geral da missão do Instituto, isto é, desenvolver atividades de pesquisa, ensino, informação, assistência e produção voltadas para melhoria da saúde da população brasileira.

LINHAS DE PESQUISA

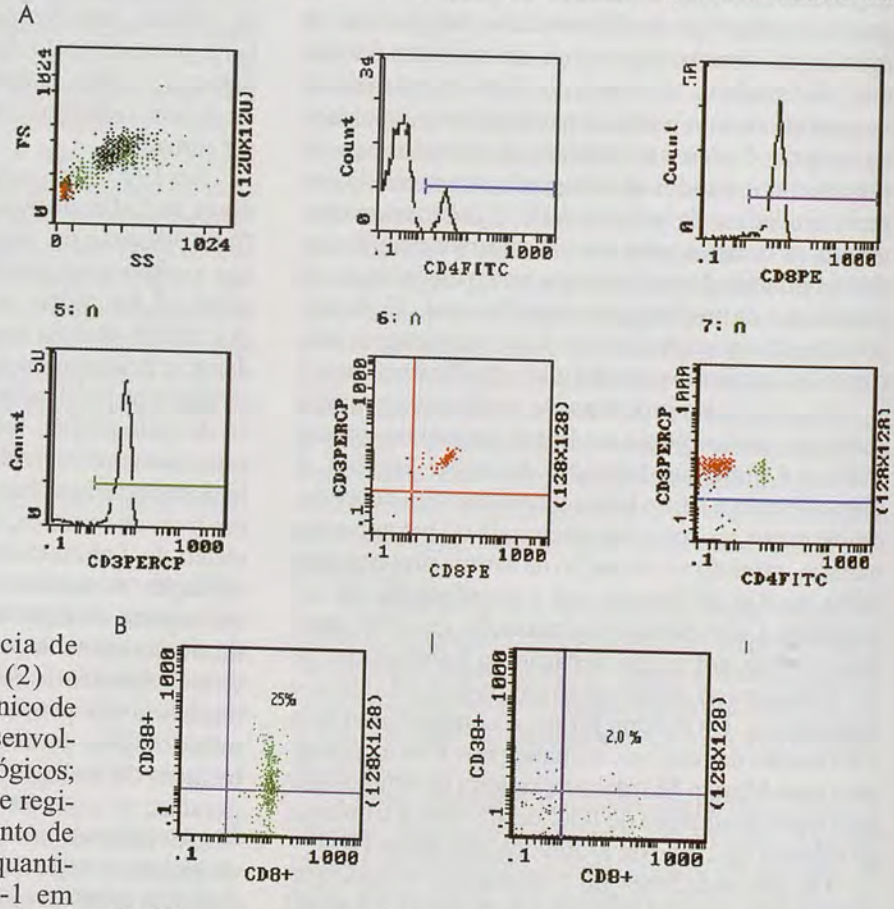
Laboratório de Aids e Imunologia Molecular

Estudos moleculares e imunológicos sobre o polimorfismo do HIV-1 no Brasil e o seu impacto em vacinas, transmissão, patogenia e resposta à terapia anti-retroviral – Uma série de estudos vem sendo realizada a partir de 1992, em nosso Laboratório, gerando diversas publicações científicas e teses de mestrado e doutorado, visando avaliar o polimorfismo genético e antigênico das amostras brasileiras de HIV-1, principalmente no contexto de gerar informações sobre a diversidade do HIV-1 em nosso meio e sua possível influência na eficácia de vacinas anti-HIV/Aids.

Assim, com base no polimorfismo genético da gp120 foi possível identificar quatro subtipos do HIV-1 no Brasil, B, F , C e D, com clara predominância de isolados do subtipo B, além de genomas recombinantes entre os subtipos B e F e de uma variante do subtipo B, denominada B", altamente prevalente no Brasil. Além disso, foi possível avaliar a resposta imune celular e humoral frente a isolados virais e peptídeos sintéticos representativos desta diversidade e verificar uma intensa reatividade cruzada tanto em relação aos anticorpos neutralizantes, como na resposta linfoproliferativa frente a distintos antígenos, sugestivos de que a diversidade genética do HIV pode não ser uma barreira intransponível para o desenvolvimento e testagem de vacinas no país. Nesta linha de pesquisa pretendemos dar continuidade avaliando (1) a presença de subtipos virais e a freqüência de genomas recombinantes; (2) o polimorfismo genético e antigênico de epítopos relevantes para o desenvolvimento de vacinas e imunobiológicos; (3) o polimorfismo genético de regiões alvo para o desenvolvimento de reagentes para a detecção e quantificação da presença do HIV-1 em materiais biológicos; (4) a influência dos subtipos/variantes genéticas na eficácia da resposta imune.

Imunopatologia da infecção pelo HIV-1 – A linha temática de imunopatologia da infecção pelo HIV tem sido também um dos temas centrais de nosso Laboratório. Em estudos próprios ou em colaboração com pesquisas clínicas, tem sido possível analisar o perfil imunológico de pacientes infectados pelo HIV-1, em diferentes estágios da classificação clínica, medido pela freqüência de diferentes subpopulações linfocitárias por citometria de fluxo, resposta linfoproliferativa a antígenos e mitógenos, expressão de citocinas e indução de apoptose. O papel de oligoelementos, como o zinco, na melhoria do status imunológico de indivíduos infectados pelo HIV-1 foi também um dos focos de nossa atenção, assim como o estudo das alterações imunológicas na co-infecção entre o HIV-1 e o *Mycobacterium tuberculosis*, sendo estes dois temas assuntos de teses já desenvovidas em nosso Laboratório.

Mais recentemente, com o advento da terapia anti-retroviral combinada de alta eficácia, nosso interesse se voltou para a avaliação da reconstituição da resposta imune avaliando a freqüência de diferentes subpopulações celulares por citometria de flu-



Perfil imunológico de indivíduos infectados pelo HIV-1 caracterizado pela inversão da relação de linfócitos T CD4+/CD8+ (A) e pela alta freqüência de linfócitos T ativados no sangue periférico (B)

xo, assim como a resposta imune a antígenos de HIV-1 e antígenos de memória.

Por outro lado, levando-se em consideração a diversidade do HIV no Brasil, estamos avaliando a evolução imunológica e a resposta à terapia anti-retroviral em coortes de indivíduos infectados com os subtipos B e não-B prevalentes no Brasil.

Prevenção da transmissão vertical do HIV-1 – Com o aumento da infecção em mulheres em idade fértil, a transmissão vertical do HIV-1 tem se tornado um problema importante na saúde pública. Nesta linha temática, estamos focalizando dois aspectos de grande relevância, voltados à (1) compreensão dos fatores associados à resposta imune humoral materna na transmissão vertical; (2) avaliação da presença de variantes virais resistentes aos anti-retrovirais em gestantes positivas para o HIV-1 e sua associação com a transmissão viral; (3) implantação e avaliação de métodos diagnósticos moleculares visando à detecção precoce da infecção pelo HIV-1 em crianças nascidas de mães soropositivas para o HIV-1.

Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos

Estudo in vitro do ciclo evolutivo de Leishmania – Nesse projeto focalizamos especificamente a metaciclogênese e a diferenciação promastigotas/amastigotas. Quais são os fatores importantes para a diferenciação? Quais são as moléculas relacionadas com a diferenciação? Quais são as moléculas associadas com a virulência do parasita e conseqüentemente com as formas metacíclicas? Quais são as principais vias metabólicas envolvidas nos diversos estágios do ciclo evolutivo dos parasitas?

Metaciclogênese e amastigotas axênicas – A grande maioria dos estudos em nível de bioquímica, imunologia e biologia dos parasitas do gênero *Leishmania* é realizada com as formas promastigotas, pela facilidade de obtenção das mesmas. As formas amastigotas isoladas de macrófagos, ou de lesões, não são adequadas para estudos bioquímicos, uma vez que essas formas estão sempre contaminadas com material do hospedeiro, levando a resultados duvidosos. A obtenção, e principalmente a manutenção de amastigotas axênicas, era um desafio. Diversos autores descreveram protocolos de obtenção dessas formas axênicas, sem entretanto se referirem ao tempo de manutenção (o maior tempo de manutenção relatado foi de 120 horas). O nosso grupo vinha tentando a manutenção por um longo prazo de culturas axênicas de amastigotas, necessárias para os nossos estudos de macromoléculas. Observamos então em *L. amazonensis*, a necessidade de um alto percentual de formas metacíclicas para que estas culturas se mantivessem estáveis. Esse é também um dado novo na literatura e as amastigotas obtidas e mantidas até o momento (cerca de três anos), foram analisadas quanto à infectividade *in vivo* e *in vitro*, ultra-estrutura e reconhecimento de antígenos; mostraram-se, em todos os aspectos, semelhantes a uma amastigota de lesão típica. É evidente que as condições de metaciclogênese e de obtenção de amastigotas em meio axênico variam com as diferentes espécies, assim como as macromoléculas envolvidas nesses processos. Assim, estamos desenvolvendo um estudo comparativo entre espécies com o objetivo de definir estes parâmetros.

Vias de sinalização celular em L. amazonensis e T. cruzi – As moléculas das vias de sinalização celular têm sido estudadas em tripanossomatídeos, mas sempre focalizando essas vias ocorrendo no hospedeiro. Como parte do nosso programa de estudo de macromoléculas e diferenciação, decidimos estudar as vias de sinalização ocorrendo no parasita e uma provável ligação com a capacidade infectante do parasita. Nossos dados claramente demonstram que a atividade de uma proteína-quinase C está diretamente associada com a metaciclogênese de *L. amazonensis*. Em *T. brucei* foram descritas duas diferentes proteína-quinases e os alvos da fosforilação são as glicoproteínas variáveis da superfície desse parasita. Das e colaboradores, em 1986, demonstraram em promastigotas de *L. donovani* uma proteína-quinase, dependente de AMPc, na superfície externa do parasita. O AMPc é um importante sinalizador para a divisão celular e a diferenciação em muitos organismos, incluindo *T. lewisi*, *T. brucei*, *Leishmania* e *T. cruzi*. Considerando-se a importância da sinalização entre células, o objetivo desse trabalho é o estudo desse processo, em especial os segundos mensageiros das vias da fosfolipase C e da adenilato ciclase (IP_3 /DAG e AMPc) em formas promastigotas de *L. amazonensis* e epimastigotas de *T. cruzi*, além das enzimas fosforilativas (PKC/PKA) envolvidas no processo.

O óxido nítrico (NO) é um dos menores metabólitos biologicamente ativos. Em mamíferos é formado pela oxidação do nitrogênio da guanidina terminal da L-Arginina, através da enzima óxido-nítrico sintase (NOS), que é dependente de NADPH e Ca^{2+}. Tem sido demonstrado que o NO participa da atividade microbiana do macrófago a diferentes patógenos. A sua formação está associada a um aumento de 3,5-monofosfato de guanosina cíclica (GMPc), o que leva à ativação de uma outra enzima fosforilativa, a proteína-quinase G (PKG), que fosforila resíduos de serina ou treonina nas proteínas

alvo, da mesma forma que a PKC e a PKA. Até 1995, as evidências indicavam que a via de transdução de sinais com a participação do NO e a ativação da guanilato ciclase só ocorria em eucariotas superiores. Já em 1995/1997, foi demonstrado que esta via ocorria também em formas epimastiogotas de *T. cruzi*.

Estudo de drogas potencialmente tripanocidas – Nesse estudo são focalizadas diferentes tripanossomiases como as leishmanioses, a doença de Chagas e o "mal de cadeiras", que são enfermidades importantes não só do ponto de vista econômico como de saúde pública. No caso das leishmanioses e da doença de Chagas, as drogas utilizadas na clínica não têm o efeito desejado quanto à eficácia, além de serem extremamente tóxicas. Quanto ao "mal de cadeiras", aparentemente o parasita já apresenta resistência ao Berenil, a única droga utilizada atualmente na clínica veterinária. Sabendo-se que a quimioterapia dessas parasitoses é extremamente precária, além de apresentar efeitos colaterais seríssimos, nosso objetivo principal é o estudo de novos compostos sintéticos, semi-sintéticos e naturais com potencial atividade tripanocida e que apresentem menor toxicidade que as drogas atualmente utilizadas contra estas parasitoses.

Compostos em estudo – Estão sendo estudadas diferentes classes de compostos químicos sintéticos, totalmente caracterizados através de IV, UV, RMN de ^{1}H e ^{13}C e espectrometria de massas. Nas moléculas originais foram feitas modificações estruturais que visam a um aumento na atividade destes compostos e fornecem dados para um estudo de relação atividade/estrutura. São os seguintes os compostos em estudo: a) amidinas - N,N'-difenil-4-R-benzamidina, onde R = H, OH, Br, Cl, CH_3, OCH_3, CN e NO_2; os compostos amidínicos têm demonstrado diferentes tipos de atividade biológica, incluindo atividade antitumoral, antiviral, antibacteriana e antifúngica. O interesse no uso destas drogas está principalmente no fato da similaridade molecular com a Pentamidina [1,5-di-(amidinofenoxi)-pentano] e o Berenil [aceturato de 4,4'(diazoamino) dibenzamidina], que também são amidinas aromáticas e usadas contra leishmanioses e "mal de cadeiras", respectivamente; b) mesoiônicos: os compostos mesoiônicos são heterocíclicos dotados de estrutura não clássica, e dentro desta classe estão sendo ensaiados os tiadiazóis; estes compostos são derivados cinamoilas meta e para-substituídos da classe dos 1,3,4-tiadiazólico-2-fenilaminas, precursores dos correspondentes mesoiônicos (mesoiônicos-1,3,4-tiadiazois). São eles: cloreto de 4-fenil-5-[4-R-cinamoil]-1,3,4-tiadiazolio-2-fenilamina, onde R = H, OH, Br, Cl, CH_3, OCH_3 e NO_2; c) resultados preliminares do nosso grupo com relação à ação de diarilheptanoides contra *L. amazonensis*, mostraram a importância de um estudo mais abrangente com esta classe de compostos. Assim, a molécula básica da curcumina (diferuloil-metano), que é um composto da classe dos diarilheptanoides, sofreu algumas modificações em sua estrutura, direcionando uma maior atividade anti *Leishmania*. É importante salientar que os curcuminoides apresentam diversas atividades biológicas sendo potentes antiinflamatórios.

Mecanismo de ação das amidinas e dos diarilheptanoides – a) atividade da tripanotione redutase em *L. amazonensis* e *T. evansi* em presença de derivados amidínicos: as células dos hospedeiros vertebrados quando parasitadas, desenvolvem diversos mecanismos de defesa, sendo um dos mais importantes a formação de compostos extremamente tóxicos (anion superóxido, H_2O_2 e radical hidroxila). Os parasitas contém a enzima superóxido dismutase e assim são capazes de transformar o anion superóxido em água oxigenada. Entretanto, estes mesmos parasitas não contém catalase nem outro tipo de peroxidase, possuindo, entretanto, um sistema redox bastante eficaz que compreende uma tripanotione redutase (análoga a glutatione redutase de células mamíferas) que utiliza como substrato primário um tripeptídeo (também análogo ao glutatione de mamíferos) ligado a uma poliamina, a espermidina e que é denominado tripanotione. A presença desse sistema, descrito inicialmente somente em tripanossomas africanos, pode ser um excelente alvo de drogas. Já foi demonstrado que a Pentamidina e o Berenil estão envolvidos com a inibição da biossíntese de poliaminas. Estão sendo realizadas análises da atividade da tripanotione redutase, em formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis* em presença/ausência das amidinas, e em formas tripomastigotas de *T. evansi*. Resultados preliminares mostram que metoxi e Br-amidinas inibem em cerca de 80% a atividade desta enzima em promastigotas de *L. amazonensis*. Por outro lado, os derivados halogenados inibem a tripanotione redutase de *T. evansi* em níveis menores (20 e 40% respectivamente); b) estudo do mecanismo de ação dos derivados curcuminoides (diarilheptanoides): os esteróides ergostanos, cuja desmetilação resulta no ergosterol são os principais componentes das membranas celulares de fungos e leishmanias, em contraste com as células de mamíferos onde o principal esteróide é o colesterol. Essa diferença permite uma seletividade com relação a determinadas drogas, que afetam a membrana de *Leishmania* sp., aumentando a sua permeabilidade. Os compostos azólicos antifúngicos que também vêm sendo estudados como

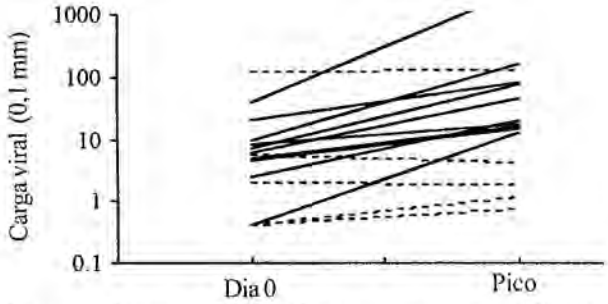
ativos contra *Leishmania*, são descritos como inibidores dessa desmetilação no C 14a do lanosterol e/ou no C24/C25 do dihidrolanosterol, que é dependente do citocromo P-450. Assim, a inibição da biossíntese do ergosterol resultaria no acúmulo de intermediários desse metabolismo. Com base nesses dados, pretendemos estudar o possível efeito dos derivados curcuminóides (diarilheptanoides) mais ativos na biossíntese do ergosterol através da análise de diferentes derivados lipídicos envolvidos nesta via metabólica em formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis;* c) avaliação de alterações da resposta imune de camundongos infectados com *L. amazonensis* e tratados com os derivados amidínicos. Análise histopatológica: infecções causadas por *Leishmania* sp. podem levar a diferentes manifestações clínicas da leishmaniose e os procedimentos terapêuticos dependem, essencialmente, da espécie ou cepa do parasita, além da resposta imune do hospedeiro. O entendimento da relação entre as diferentes drogas tripanocidas e a resposta imune do hospedeiro são da maior importância. Dados da literatura mostram que algumas drogas em uso clínico inibem certos mecanismos imunes do paciente. Assim, estamos avaliando as possíveis alterações na resposta imune de camundongos infectados com *L. amazonensis* e tratados com os derivados amidínicos e mesoiônicos que apresentam maior atividade *in vitro*. Será ainda feita uma análise histopatológica; d) avaliação das modificações ultra-estruturais em *L. amazonensis* em presença de derivados amidínicos e mesoiônicos: algumas drogas em estudos experimentais levam a alterações importantes na ultra-estrutura do parasita, principalmente ao nível do cinetoplasto. Estas possíveis modificações estão sendo avaliadas em presença destes compostos. Estudando a via da guanilato ciclase, ativada pelo NO foi possível observar uma significativa produção deste radical por promastigotas metacíclicas de *L. amazonensis*, mostrando sua importância na infectividade do parasita. Dando continuidade, pretendemos definir este sistema de sinalização em formas amastigotas, além de realizar uma análise comparativa entre diferentes espécies de *Leishmania* do Novo Mundo.

Laboratório de Imunologia Clínica

Imunologia de mucosa em HIV/Aids - As pesquisas relacionadas ao estudo da resposta imunológica de mucosa em pacientes HIV+ vêm sendo realizadas em colaboração com a Division of Infectious Diseases, St. George's Hospital Medical School, University of London. Descrevemos a permanência da resposta imunológica de pacientes com linfócitos TCD4+, o que é de importância fundamental no uso de vacinas orais. Mostramos que existe o aumento de carga viral de maneira transitória e sem comprometimento na evolução da doença após a imunização oral. Sugerimos, também, que a diminuição precoce de linfócitos TCD4+ no trato gastrointestinal em relação ao sangue de indivíduos com Aids que habitam os países em desenvolvimento, poderia ser secundária ao grande número de doenças infecciosas do aparelho digestivo, as quais ativariam o sistema imunológico mucoso mais precocemente, com a conseqüente diminuição dos linfócitos mucosos.

Acompanhamento clínico de pacientes com HIV/Aids - Nossos estudos com pacientes moradores de rua, em colaboração com o Ambulatório da Providência, mostraram que os indivíduos abrigados sobreviviam o dobro do tempo dos indivíduos não abrigados. Diversos fatores foram analisados e destacamos o uso controlado de medicação, o não uso de drogas ilícitas, acompanhamento clínico mais freqüente e adequação nutricional. Esse estudo prospectivo foi iniciado em 1989 e seus dados mais recentes publicados na *Nature* em 1998.

Avaliação do perfil imunológico e nutricional de pacientes com HIV/Aids - Os resultados do estudo de sobrevida de pacientes marginalizados com Aids mostraram que pacientes abrigados sobreviviam o dobro do tempo que os indivíduos que continuavam a morar nas ruas; um dos prováveis fatores causadores seria a nutrição. Isso fez com que analisássemos a influência desta infecção sobre o perfil imunológico e como a intervenção nutricional poderia alterar a evolução da doença. Os nossos resulta-



Neste gráfico mostramos, pela primeira vez, que indivíduos infectados pelo HIV-1 apresentam aumento da carga viral circulante após a imunização por via oral. Mostramos a carga viral basal (dia 0) e a carga viral máxima (pico) em doze indivíduos infectados pelo HIV-1 imunizados com a vacina oral contra a cólera (linhas contínuas) e cinco indivíduos infectados pelo HIV-1 que não foram imunizados (linhas pontilhadas).

dos sugerem que antes da introdução da terapia combinada (HAART) a oferta alimentar adequada fazia com que os pacientes com suas infecções oportunistas controladas ganhassem ou mantivessem o peso. Estamos analisando, no momento, os dados de pacientes após o início da HAART.

Resposta imunológica a vacinas orais – A pesquisa sobre a resposta imunológlca ao BCG oral iniciou-se em colaboração com a Fundação Ataulpho de Paiva. Utilizando voluntários, notamos que a maioria dos indivíduos PPD negativo havia sido imunizada na infância por via oral. Nosso trabalho sugere que indivíduos que foram imunizados por via oral podem apresentar uma resposta imunológica específica contra o PPD em testes *in vitro* e *ex vivo*. Entretanto essa resposta pode não estar acompanhada de uma resposta do tipo DTH (hipersensibilidade retardada), podendo o indivíduo apresentar teste cutâneo negativo.

Desenvolvimento de vacinas orais – Em colaboração com a Fundação Ataulpho de Paiva, com o St. George's Hospital Medical School e com o patrocínio da OMS desenvolvemos um BCG Moreau recombinante que se encontra em fase de testes na Inglaterra.

Estudo de antígenos de Trypanosoma cruzi – Estamos estudando os antígenos liberados pelo parasita e sua interação com células normais.

Detecção de anticorpos em mucosa para o Trypanosoma cruzi – Desenvolvemos uma nova metodologia para a detecção de anticorpos de *T. cruzi* em saliva humana. Trabalho publicado na *Acta Tropica*.

Laboratório de Pesquisas em Imunidade Celular e Humoral em Protozooses

Até 1998 o Laboratório vinha mantendo uma de suas tradicionais linhas de investigação sobre soroepidemiologia da toxoplasmose e leishmanioses, humana e animal. Tal linha gerou importantes conhecimentos sobre prevalência e riscos de infecção pelo *T. gondii* em gestantes em nosso meio, assim como trouxe importantes informações para o Ministério da Saúde, no combate à transmissão das leishmanioses no Rio de Janeiro. Essa linha tende a ser menos ativa no futuro, sendo priorizadas as que se seguem:

Estudo da resposta imune mediada por linfócitos T. na leishmaniose humana e experimental, a partir de células obtidas de sangue e de lesões – Avaliação do perfil das citocinas produzidas e do fenótipo das células T respondedoras, após estímulo antigênico, no sentido de determinar-se padrões de respostas associados ao agravamento, cura ou proteção. Definidos os perfis de resposta imune associados à proteção, serão avaliadas várias preparações antigênicas de terceira geração, quanto à indução *in vitro* de um perfil de resposta favorável. Serão selecionadas, assim, preparações produzidas por outros grupos, candidatas a futuras vacinas.

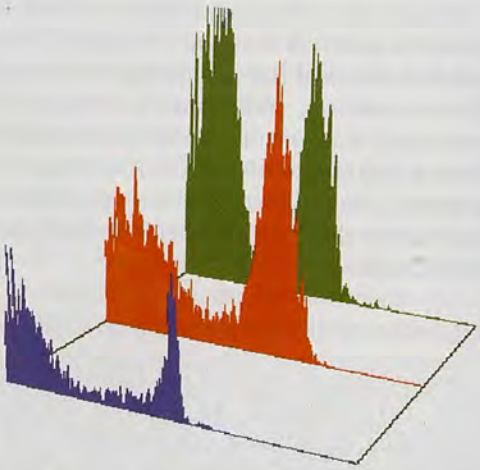
Estudo citofluorimétrico dos fenômenos de apoptose e necrose de células obtidas de lesões e sua associação com a tendência para a cura ou agravamento da leishmaniose – Expressão e indução de Fas e Fas ligante e sua relação com os mecanismos que levem à cura ou ao agravamento das leishmanioses.

Estudo imunológico de pacientes com leishmaniose ou doença de Chagas associadas ao HIV – Avaliação do impacto da Aids nestas doenças parasitárias.

Doença de Chagas experimental. Indução de morte celular pelo T. cruzi.

Desenvolvimento de um modelo experimental de infecção de macacos rhesus por Leishmania e sua utilização para testes de preparações, candidatas para uma vacina em humanos.

Citometria de fluxo: sua utilização no estudo da interação parasita-célula do hospedeiro.



Análise citofluorimétrica de linfócitos T obtidos de lesões de pacientes de leishmaniose tegumentar americana. Células T $CD4^+$ (verde); células T $CD8^+$ (vermelho); células apoptóticas (azul)

Laboratório de Pesquisas em Auto-imunidade e Auto-regulação

Mecanismos de gênese e controle da resposta imunológica em doenças parasitárias e auto-imunes – Esta linha de pesquisa visa ao entendimento dos mecanismos que desencadeiam a resposta imunológica que, em alguns casos, apresenta componentes auto-imunes, assim como os mecanismos participantes do controle desta resposta. Estas questões são abordadas através da utilização de modelos experimentais para a infecção chagásica e a infecção toxoplásmica experimental através da 1) caracterização fenotípica e funcional de células presentes em infiltrados inflamatórios no sistema nervoso, no tecido muscular (miocárdio e músculo esquelético) e na periferia (baço e sangue), através de ensaios de imuno-histoquímica, citometria de fluxo, resposta proliferativa e outras atividades funcionais; 2) caracterização do perfil de citocinas e quimiocinas presentes nos órgãos alvos do estudo e expressas por células presentes em infiltrados inflamatórios, nestes através de ensaios de imuno-histoquímica e PCR; 3) caracterização do perfil de citocinas expressas por células presentes em infiltrados inflamatórios e na periferia após estímulo *in vitro* com antígenos parasitários e auto-antígenos por meio de ensaios de ELISA e PCR; 4) caracterização de receptores clonais de antígeno (TCR) expressos por células presentes em infiltrados inflamatórios nos órgãos alvos do estudo através de ensaios de citometria de fluxo; 5) caracterização de resposta imune humoral e celular de reconhecimento de antígeno do parasito e auto-antígenos por meio de ensaios de ELISA e resposta proliferativa, assim como a caracterização funcional destas respostas procurando esclarecer seu papel na patogênese e na imunidade protetora.

Função da matriz extracelular, seus receptores e moléculas de adesão nos processos de ativação e migração de células presentes em infiltrados inflamatórios em doenças parasitárias e auto-imunes – Esta linha de pesquisa visa estabelecer as moléculas envolvidas nos processos de ativação e migração de células inflamatórias presentes em sítios de lesão e em tecidos linfóides periféricos no curso de doenças parasitárias (infecção chagásica e toxoplásmica experimental) e auto-imunes (encefalomielite, miocardite e miosite experimentais induzidas por auto-antígenos) através do 1) estudo da expressão de componentes da matriz extracelular, seus receptores e moléculas de adesão em células do parênquima e células presentes em infiltrados inflamatórios em sítios de lesão em doenças parasitárias e auto-imunes, através de ensaios imuno-histoquímicos e citometria de fluxo; 2) estudo sobre o papel de componentes da matriz extracelular e seus receptores na migração de linfócitos T para sítios de reatividade, através de ensaios de adesão *in vitro* e bloqueio de migração celular *in vivo*.

Laboratório de Pesquisas em Malária

Desenvolvimento de metodologias alternativas para diagnóstico e prognóstico da malária humana e prevenção da infecção transfusional – O uso do PCR no diagnóstico das malárias por *P. falciparum* e *P. vivax* em indivíduos paucipa-rasitados.

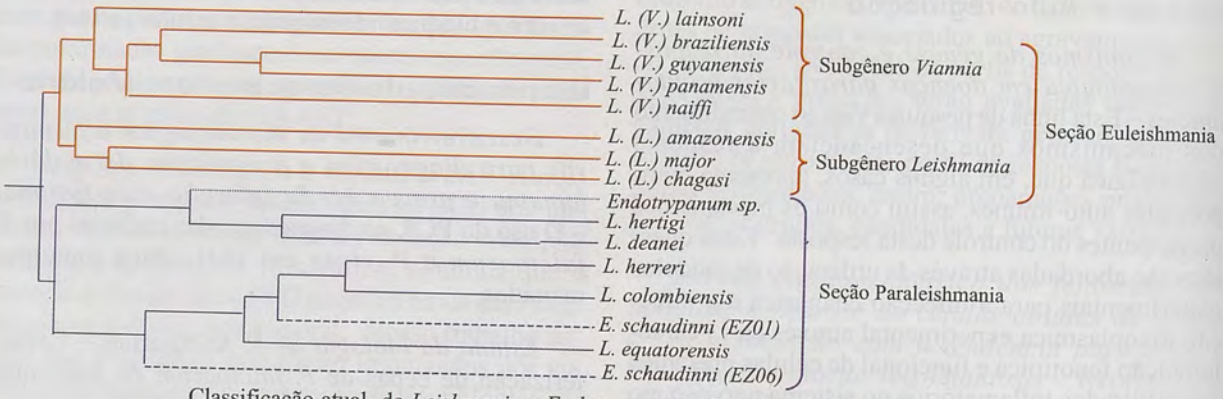
Estudo da biologia do P. falciparum – Caracterização de cepas de *P. falciparum* de diferentes origens geográficas pela técnica de PCR.

Estudos sobre a imunologia e a imuno-patologia na infecção humana e em modelos experimentais – a) infecção humana: estudo dos fatores relacionados à morte celular programada por apoptose em pacientes com malária aguda; complexo principal de histocompatibilidade e malária: estudo de relação dos alelos de HLA classe II e a resposta imune a proteínas candidatas a compor uma vacina antimalárica; estudo do perfil imunológico de populações indígenas da Bacia Amazônica com respeito a antígenos de formas esporozoita e sangüíneas do *P. falciparum;* estudo da prevalência do antígeno P 126 em diferentes cepas plasmodiais e da resposta imune ao mesmo antígeno em populações de diferentes áreas endêmicas de malária na Amazônia brasileira; estudo cinético das respostas imunes humoral e celular à proteína HsPf72 de *P. falciparum em* indivíduos naturalmente expostos a malária; estudo da reatividade de auto-anticorpos produzidos durante o curso de lupus eritematoso sistêmico contra antígenos plasmodiais; b) modelo de infecção murina - malária murina: estudo da cinética de populações linfocitárias e da resposta específica no curso da infecção; indução de células T CD8+ contra estágios pré-eritrocíticos do *P. yoelii;* estudo do papel da doença auto-imune de desenvolvimento espontâneo (e do background genético) de camundongos NZB/NZW no curso da infecção experimental; estudo do efeito da absorção de anticorpos protetores por auto-antígenos na tranferência de proteção contra infecção por *P. yoelii,* por soro; c) modelo de primatas não-humanos: estudo pré-clínico da imunogenicidade de MSP-3 e GLURP, dois antígenos de *P. falciparum* alvos de anticorpos protetores.

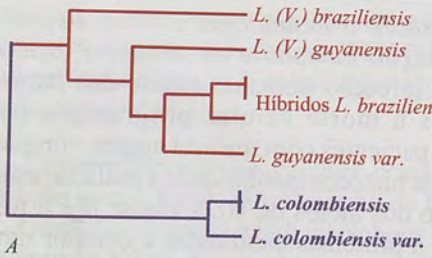
Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose

Estudos vacínicos contra leishmaniose em modelos primatas padronizados no laboratório – Objetivos: estudar a segurança/eficácia de vaci-

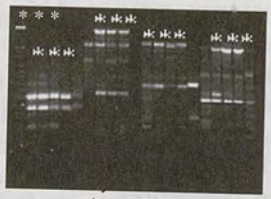
Taxonomia e epidemiologia molecular das leishmanioses

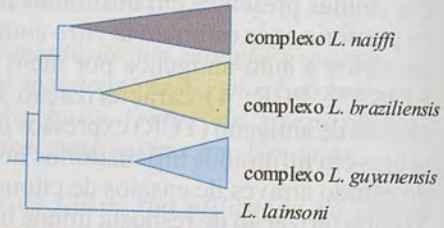


Classificação atual de *Leishmania* e *Endotrypanum* - Relação genética entre as espécies

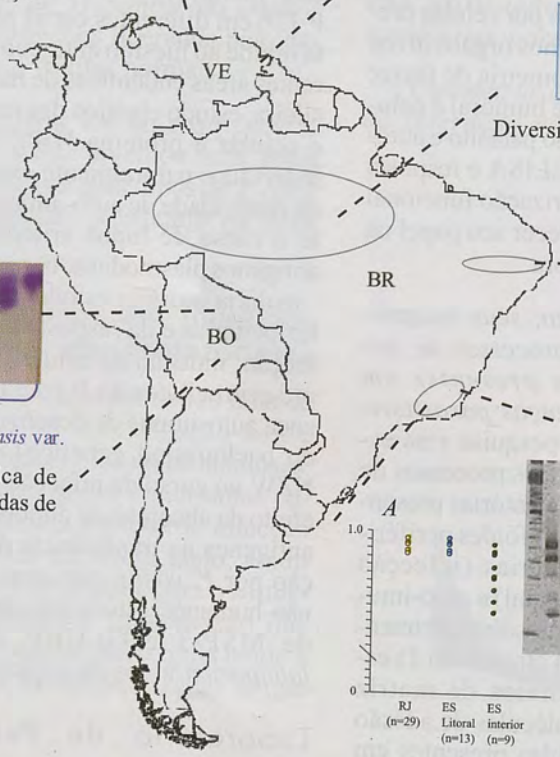


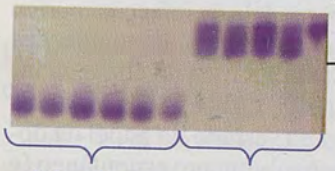
(A) Identificação de espécies de *Leishmania* circulando na Venezuela. *(B)* Perfil de RAPD de *L. colombiensis* provenientes de forma cutânea e visceral (*) da doença



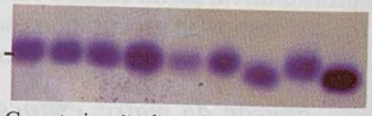


Diversidade genética de *Leishmania* da Amazônia

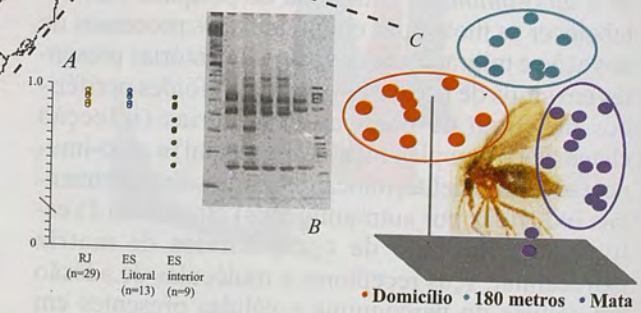




Caracterização isoenzimática de amostras de *Leishmania* isoladas de casos humanos na Bolívia



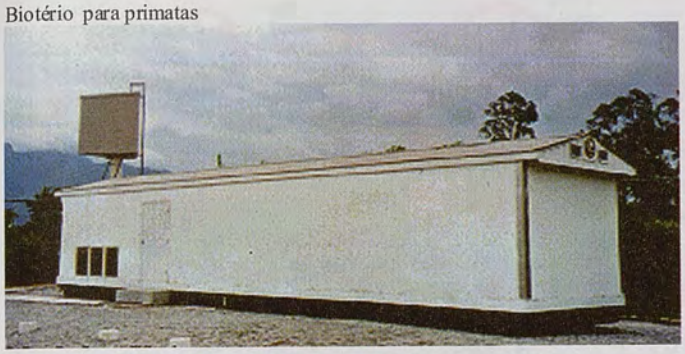
Caracterização de variantes enzimáticas de isolados de *L. braziliensis* provenientes de área endêmica em Pernambuco



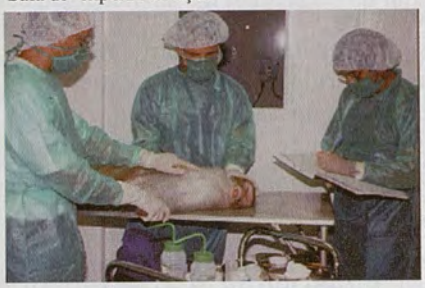
Avaliação da estrutura genética de *L. (V.) braziliensis* e seus vetores no Rio de Janeiro e Espírito Santo. *A:* níveis de variabilidade observados nos distintos grupos; *B:* RFLP-ITSrDNA de alguns isolados da região; *C:* variabilidade genética de populações de *Lutzomyia intermedia* coletadas em uma mesma área endêmica no Rio de Janeiro

Estudos vacínicos em modelo primata não-humano para o controle das leishmanioses

Biotério para primatas

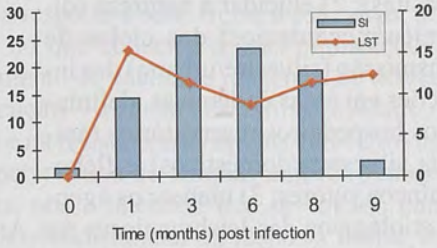


Sala de experimentação

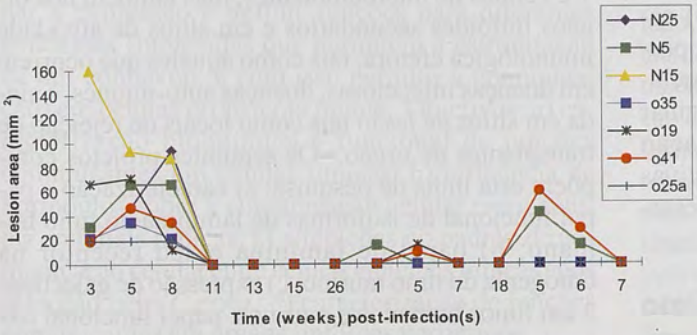


Sala dos animais

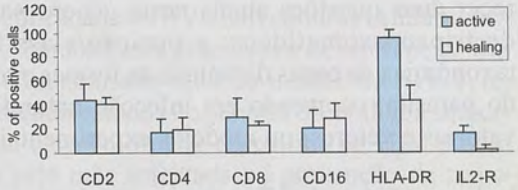
Respostas imunocelulares à *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* em Macaca mulatta

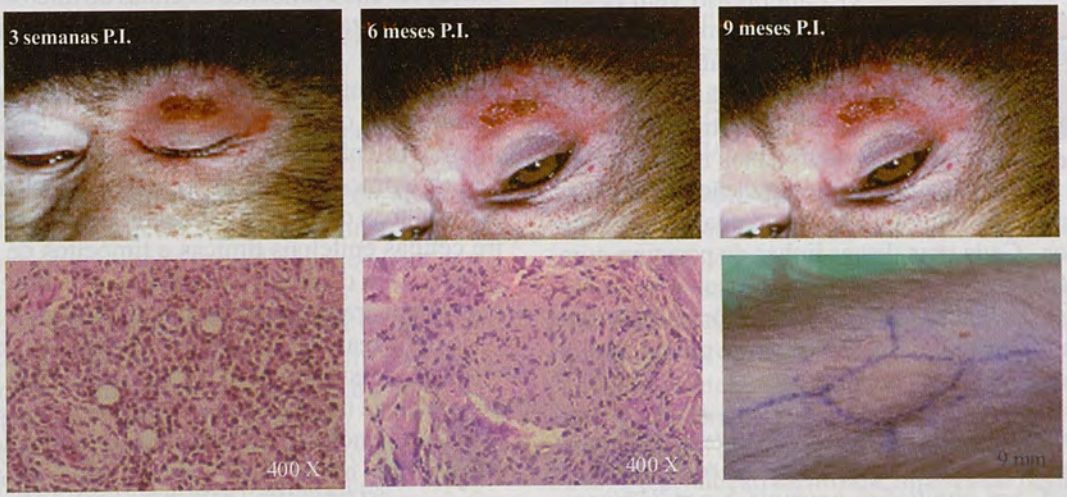


Resistência clínica aos desafios homólogos com *L. (L.) major* macacos rhesus durante a fase de convalescência da doença primária (LC)



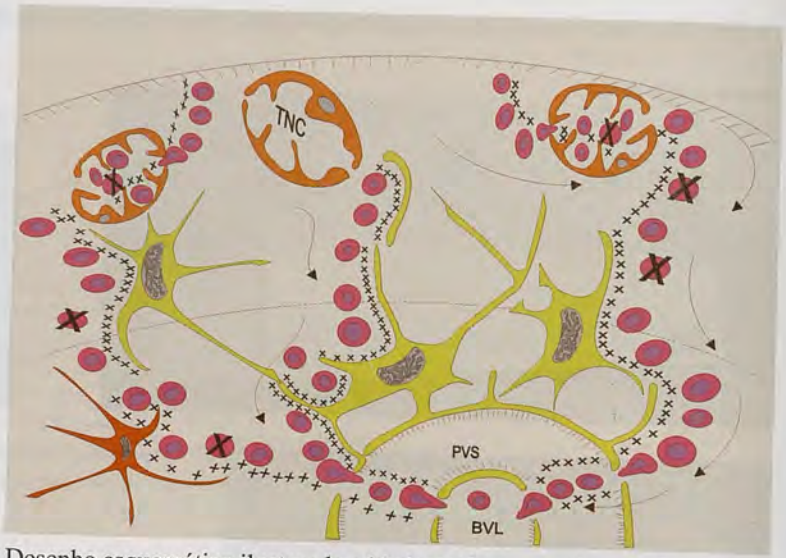
macacos rhesus infectados com *L. (L.) amazonensis*





Curso evolutivo da leishmaniose tegumentar por *L. (L.) braziliensis* em *M. mulatta*. Notam-se aqui as características macro e microscópicas das lesões e a reação de Montenegro observadas na leishmania tegumentar americana

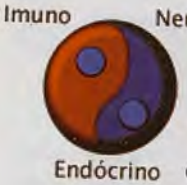
nas candidatas de *Primeira Geração* (antígenos não fracionados) e *Segunda Geração* (antígenos recombinantes) em induzir imunogenicidade (testada com vários parâmetros definidos para medir imunidade) e resistência adquirida em modelo experimental primata *(Macaca mulatta)* contra infecção de desafio com *Leishmania virulenta.*



Desenho esquemático ilustrando a hipótese de que a migração intratímica de linfócitos tenha um padrão ordenado como se estivessem migrando sobre uma esteira rolante (convyor belt). Segundo postulado pelo Laboratório de Pesquisas sobre o Timo, o substrato molecular desta esteira rolante poderia ser um arranjo de moléculas de matriz extracelular.

Taxonomia/epidemiologia molecular de Leishmania/Endotrypanum – Objetivos: 1) estudar a estrutura genética populacional do gênero *Leishmania* (com tipagem/classificação molecular/numérica dos parasitas); 2) elucidar a natureza (dinâmica/mecanismos) dos ciclos de transmissão (silvestre/urbano) das infecções em áreas endêmicas, definindo os hospedeiros reservatórios (animais silvestres/domésticos) e flebotomíneos vetores; 3) mapear os agentes etiológicos das leishmanioses nas Américas; 4) correlacionar os dados moleculares específicos do parasita com os quadros clínico e patológico da doença (patogenicidade, resposta terapêutica); 5) caracterizar a estrutura molecular e estudar o comportamento biológico de *Endotrypanum,* visando esclarecer duas questões atuais neste gênero particular de tripanossomatídeos: a posição/classificação taxonômica de cepas distintas e as formas evolutivas do parasita, ocorrendo em infecção natural (reservatórios e vetores) ou modelos experimentais.

Laboratório de Pesquisas sobre o Timo



O Laboratório vem desenvolvendo diferentes linhas de pesquisa que, de fato, refletem o estudo de distintas formas de interação celular entre linfócitos T e células de diversos microambientes: sua caracterização na fisiologia do sistema imunológico e seus eventuais desvios patológicos. Cada uma destas linhas de pesquisa compreende vários projetos específicos, sob responsabilidade dos pesquisadores do Laboratório, envolvendo alunos de pós-graduação, e ainda outros laboratórios com os quais cooperamos.

Interações celulares mediadas por matriz extracelular no timo e em sítios de reatividade de células T, em condições normais e patológicas – Essa linha de pesquisa tem como objetivo o entendimento sobre o papel de diferentes ligantes e receptores de matriz extracelular na fisiologia dos linfócitos T e células de microambientes, mas também nos órgãos linfóides secundários e em sítios de atividade imunológica efetora, tais como aqueles que ocorrem em doenças infecciosas, doenças auto-imunes, e ainda em sítios de lesão tais como locais de rejeição de transplantes de órgão. Os seguintes projetos compõem esta linha de pesquisa: a) caracterização e papel funcional de isoformas de laminina no timo humano; b) papel de laminina e seu receptor na ontogenia do timo murino; c) expressão de galectina-3 em timos humanos e murinos: papel funcional nas interações entre timócitos e células do microambiente; d) caracterização e papel funcional de glicosaminoglicanas e proteoglicanas em células do microambiente tímico; e) estudo sobre as populações linfocitárias que aderem a diferentes elementos do microambiente tímico, via interações mediadas por matriz extracelular; f) expressão e papel funcional de proteínas de matriz extracelular na interação entre células epiteliais tímicas e timócitos de galinha; g) definição do papel de laminina e seu receptor na rejeição de transplantes cardíacos isogênicos por células auto-reativas de animais chagásicos; h) caracterização histológica e fenotípica de um modelo alogênico de transplante cardíaco: papel da laminina; i) caracterização de ligantes e receptores de matriz extracelular no timo de animais infectados pelo *T. cruzi* - papel na migração celular; j) estudo sobre as alterações de células epiteliais tímicas após infecção

pelo *T. cruzi* - conseqüência sobre as interações com timócitos; l) caracterização de ligantes e receptores de matriz extracelular no timo de camundongos diabéticos não-obesos - papel na migração celular; m) estudo do microambiente timico de camundongos knockout para diferentes moléculas expressas em células T; n) expressão de ligantes e receptores de matriz extracelular em órgãos linfóides periféricos de animais infectados pelo *T. cruzi*.

Controle neuroendócrino sobre o timo – Nessa linha de pesquisa, procuramos determinar a influência de diferentes hormônios sobre os vários componentes celulares do timo, assim como a expressão de receptores hormonais e produção de hormônios por essas mesmas células: a) determinação da influência de hormônios hipofisários sobre as interações timócitos/células epiteliais timicas; b) determinação da influência de hormônios tireóideos sobre o microambiente timico e sua interação com timócitos; c) influência de hormônios hipofisários sobre a ontogenia do timo murino; d) caracterização de receptores hormonais em células timicas humanas e murinas.

Junções comunicantes no sistema imune – Com essa linha de pesquisa procurar-se-á determinar a expressão e definir funções para diferentes conexinas (moléculas que permitem a estruturação de um connexon, e com isso permitir a comunicação) em células do sistema imune. Objetivos: a) caracterização bioquímica e funcional de junções comunicantes em células timicas; b) influência de hormônios sobre a comunicação celular entre células epiteliais timicas; c) alterações no padrão de comunicação celular entre células epiteliais timicas após infecção pelo *T. cruzi;* d) caracterização de junções comunicantes em órgãos linfóides periféricos.

Receptores purinérgicos no sistema imune – Com esta linha de pesquisa procura-se determinar a expressão e definir funções para receptores purinérgicos (particularmente o receptor P2Z) em células do sistema imune. Os projetos atualmente em desenvolvimento visam à compreensão desses receptores em condições normais de funcionamento do sistema imune, o que servirá de base para futuros projetos sobre o comportamento dos mesmos em condições patológicas: a) caracterização e papel funcional de receptores purinérgicos em células do microambiente timico; b) caracterização e papel funcional de receptores purinérgicos em células dendríticas de órgãos linfóides periféricos; c) aspectos biofisicos dos receptores purinérgicos.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Uma das perspectivas é a realização de uma oficina de trabalho, ainda no primeiro semestre de 2000, que terá como objetivos principais a discussão dos diferentes projetos realizados no âmbito dos oito laboratórios integrantes do Departamento e a estruturação de um eixo científico comum, que permitirá a construção de um Projeto Departamento de Investigação Científica, unindo todos os laboratórios.

Laboratório de Aids e Imunologia Molecular

A perspectiva do Laboratório é de consolidar suas linhas de pesquisa voltadas à questão da diversidade do HIV e da resposta imune frente a este vírus, principalmente no que concerne a suas implicações no desenvolvimento de vacinas e reagentes de detecção e quantificação viral, na transmissibilidade, na patogênese e na resistência às drogas anti-retrovirais. Diante da perspectiva de terapias anti-retrovirais de alta eficácia, nosso interesse tem se voltado para a avaliação da reconstituição da resposta imune através da análise fenotípica de subpopulações de linfócitos T e da resposta funcional destas células. Por outro lado, em função do desenvolvimento nacional de drogas com potencial anti-retroviral, estamos participando da análise das mesmas através de estudos de inibição da replicação do HIV-1 em culturas celulares utilizando isolados virais primários e de referência. Em relação à transmissão materno-infantil do HIV-1, temos realizado estudos no sentido de avaliar a importância da resposta imune específica ao HIV desenvolvida pela mãe infectada na prevenção da transmissão vertical, assim como estamos avaliando a utilização de métodos moleculares e imunológicos na identificação precoce da infecção pelo HIV em crianças nascidas de mães soropositivas.

Laboratório de Auto-imunidade e Imuno-regulação

Consolidação do Laboratório através do desenvolvimento das linhas de pesquisas propostas (mecanismos de gênese e regulação da resposta imune em doenças parasitárias e auto-imunes; função da matriz extracelular, seus receptores e moléculas de adesão nos processos de ativação e migração de células presentes em infiltrados inflamatórios em doenças parasitárias e auto-imunes) dando continuidade à formação de recursos humanos (mestres e doutores) e à produção científica, através da publicação de artigos científicos.

Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos

Na pesquisa, a meta do grupo é o estudo de compostos sintéticos e naturais com potencial atividade anti *Leishmania* sp. Para alcançar esse objetivo pretendemos avaliar no parasita, os aspectos a) biológicos, no sentido de padronizar as melhores condições dos testes de atividade, tais como pH, temperatura, nutrientes, estágio evolutivo, infectividade e diferença entre espécies quanto à sensibilidade às drogas. Além disso, análises de toxicidade *in vitro* e *in vivo* serão priorizadas; b) bioquímicas, na tentativa de definir um alvo para as drogas em estudo. Para isto, diversos caminhos metabólicos serão estudados, entre os quais podemos ressaltar: 1) a enzima tripanotione-redutase, que tem como substrato primário o tripanotione, considerando-se que este sistema redox funciona como um sistema de defesa do parasita; 2) biossíntese do ergosterol, predominante nas membranas do parasita; 3) vias de sinalização (fosolipase C/adenilato ciclase C/guanilato ciclase), que têm sido descritas como fundamentais para proliferação e infectividade.

Na formação de recursos humanos o Laboratário visa à orientação de alunos em nível de iniciação científica, mestrado e doutorado e à coordenação de disciplinas nos cursos de pós-graduação do IOC.

Outro objetivo será o de manter colaborações em nível nacional e internacional.

Laboratório de Imunologia Celular e Humoral em Protozooses

O Laboratório continuará preocupado basicamente tanto com a produção de novos conhecimentos científicos e pesquisas estratégicas voltados para o bem estar da sociedade, como com a formação de cientistas capacitados, além de ter atividades de apoio e prestação de serviços em áreas de sua competência. As linhas de investigações científicas procurando a melhor compreensão dos mecanismos imunológicos relevantes para a cura e proteção contra as leishmanioses e outras protozooses serão incrementadas através da implantação de novos métodos de investigação. Uma linha recentemente introduzida no Laboratório será grandemente incentivada, já que visará à definição de futuras preparações molecularmente definidas, candidatas a futuras vacinas contra leishmanioses, utilizando técnicas de biologia molecular. O novo citômetro de fluxo de última geração recentemente adquirido pelo IOC e instalado no Laboratório trará maiores facilidades para as investigações que necessitam tal tecnologia de ponta para a sua consecução. As perspectivas futuras são de otimismo, ainda mais que estaremos nos mudando para outro prédio, de instalações novas e modernas, gerando um clima altamente favorável à criatividade e ao trabalho científico.

Laboratório de Imunologia Clínica

As perspectivas do Laboratório são: manter as linhas de pesquisa que estão em desenvolvimento; avaliar os efeitos da terapia anti-retroviral combinada sobre a restauração do sistema imunológico de pacientes com HIV/Aids; avaliar a imunomodulação por micronutrientes em pacientes com HIV/Aids; desenvolver testes rápidos para o diagnóstico de doenças transmissíveis.

A ampliação das linhas de pesquisa do Laboratório será possível com o aumento de espaço físico a partir da mudança do Departamento para o pavilhão 26. Com isto poderemos, também, aumentar a formação de pessoal.

Laboratório de Pesquisa em Leishmaniose

Vários estudos desenvolvidos no Laboratório sobre taxonomia/filogenia molecular numérica de tripanossomatídeos demonstram a grande diversidade genética desses organismos, ocorrendo em populações naturais de parasitas principalmente dos gêneros *Leishmania* e *Endotrypanum*. Com o suporte financeiro aprovado pelo Programa de Apoio a Núcleos de Excelência/MCT (Pronex 3), o foco e a articulação das atividades propostas no "Programa Integrado de Pesquisa em Epidemiologia Molecular das Leishmanioses" serão ampliados, com a participação de outros grupos componentes do Núcleo que atuam na Fiocruz ou em outras instituições (Inpa e UFES).

Nos estudos vacínicos contra leishmaniose em modelo primata a infecção experimental de macacos rhesus (*Macaca mulatta*) com *Leishmania* [*L.* (*L.*) *amazonensis*, *L.* (*L.*) *major*, ou *L.* (*V.*) *braziliensis*], nos permitiu padronizar um modelo primata capaz de reproduzir o espectro da LT. Experimentos em progresso no Laboratório, empregando este modelo, testam a segurança, imunogenicidade e eficácia de várias vacinas candidatas (de "*Primeira*", "*Segunda*" ou "*Terceira*" *Geração*) contra leishmaniose: ensaios preliminares demonstram que a imunidade induzida com antígenos recombinantes é variável entre animais vacinados, sendo a vacina mais eficaz quando usado protocolo adequado (por exemplo, variando a dose do antígeno ou formulando diferentes combinações de antígenos e/ou adjuvantes). Como as respostas do hospedeiro à *Leishmania* em macacos são similares àquelas observadas em humanos, o uso do modelo primata pode

indicar de maneira objetiva o potencial de sucesso e/ou limitação de vacinas humanas. Estes experimentos são fundamentais para o planejamento de ensaios pré-clínicos.

Laboratório de Pesquisas em Malária

Em quinze anos de vida o Laboratório incorporou três pesquisadores e desenvolveu pesquisas em temáticas que correspondiam basicamente ao desdobramento natural das linhas de pesquisa nas quais o treinamento de cada pesquisador havia se passado. Com o aumento do grupo, passamos a desenvolver pesquisas em um conjunto relativamente abrangente de temáticas. Tal resultado foi benéfico no sentido de conferir ao grupo uma diversidade de competências que permita que escolhamos nossos caminhos futuros sem necessidade de temermos aspectos técnicos ou metodológicos de nossas opções.

Por outro lado a escassez progressiva de recursos destinados à pesquisa biomédica devido à alta competitividade em áreas do conhecimento como a imunologia da malária, nos obrigam a direcionar nossas ações com os objetivos de aumentar o impacto de nossas contribuições tanto ao nível científico quanto na saúde pública.

Dentro de tal contexto nossa pretensão é de desenhar de forma tão racional quanto possível as linhas de pesquisa em torno das quais devem girar as atividades futuras do grupo. Definir "onde iremos em função de onde estamos" significa escolher temas que atendam a demandas reais de pesquisa levando em consideração nossas competências.

Nosso diagnóstico atual nos permite vislumbrar uma ênfase em nossas atividades em médio prazo da seguinte forma: a) desenvolvimento de projetos (e busca de apoio financeiro conseqüente) visando ao envolvimento progressivo do grupo em ensaios pré-clínicos de moléculas potencialmente vacinais de forma a estimular o desenvolvimento de centros de primatologia e o envolvimento dos líderes de tais centros em pesquisas dessa natureza no Brasil onde tal perfil de atuação é ainda incipiente; b) desenvolvimento de projetos de pesquisa visando estudar mecanismos (ADCI, perfil de fenótipos celulares, citoquinas, etc.) e fatores genéticos (fundamentalmente Ags de classe II do complexo HLA) envolvidos na proteção da infecção natural humana, em primatas não humanos artificialmente imunizados e em modelos de malária experimental murina; c) dar continuidade e aprofundamento à vocação do grupo para estudos imunopatológicos centralizando esforços em aspectos como o papel da auto-imunidade e da apoptose na proteção e imunopatalogia da malária; d) investir na capacitação de recursos humanos em biologia molecular visando ao aumento da massa crítica envolvida nos projetos de estudo da biologia do parasita com abordagem molecular na busca de marcadores funcionais como os de patogenicidade, imunogenicidade e antigenicidade.

Laboratório de Pesquisas sobre o Timo

O Laboratório tem como perspectiva temática central a continuação do desenvolvimento das linhas de pesquisa e respectivos projetos, delineados anteriormente, utilizando de forma crescente técnica de biologia molecular e animais geneticamente modificados. Para tal, acordos de cooperação científica nacionais e internacionais foram recentemente aprovados. Iniciamos a implementação da técnica de cultura organotípica de timo fetal e a análise citofluorimétrica utilizando, simultaneamente, quatro marcadores celulares fluorescentes. Por outro lado, temos a intenção de montar no Laboratório um sistema de microscopia para análise de fluxo de cálcio intracelular e ainda dotá-lo de micromanipulador para injeção intracelular de fluorocromos. Finalmente, deveremos implementar técnicas de eletrofisiologia celular.

Todo o trabalho de desenvolvimento científico previsto para ser executado no Laboratório tem sempre como pano de fundo a formação de recursos humanos especializados. Nesse sentido várias teses de mestrado e doutorado estão em andamento, e temos ainda alguns alunos de iniciação científica.

DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA
CHEFE: *Wilson Savino*

LABORATÓRIO DE AIDS E IMUNOLOGIA MOLECULAR
CHEFE: *Mariza Gonçalves Morgado*

Deise Luci A. Campos Mello	Tecnologista
Ivan Neves Júnior	Pesquisador Visitante/Faperj
José Carlos Couto Fernandez	Pesquisador Associado
Mariza Gonçalves Morgado	Pesquisador Titular
Vera Bongertz	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS
CHEFE: *Leonor Laura Pinto Leon*

Gérzia Maria de Carvalho Machado	Tecnologista
Leonor Laura Pinto Leon	Pesquisador Titular
Marilene M. do Canto Cavalheiro	Pesquisador Adjunto
Milton Daniel Aillon Torres	Pesquisador Visitante/Faperj

LABORATÓRIO DE IMUNIDADE CELULAR
CHEFE: *Sérgio Gomes Coutinho*

Alda Maria da Cruz	Assistente de Pesquisa
Alvaro Luiz Bertho dos Santos	Pesquisador Associado
Fátima da Conceição Silva	Pesquisador Associado
Léa Cysne Finkelstein	Pesquisador Adjunto
Marise Pinheiro Nunes	Pesquisador Adjunto
Marta de Almeida Santiago	Pesquisador Visitante/Faperj
Paula Mello De Luca	Pesquisador Visitante/CNPq
Ricardo dos Santos Nogueira	Assistente de Pesquisa
Sergio G. Coutinho	Pesquisador Titular
Sergio C. Furtado de Mendonça	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA CLÍNICA
CHEFE: *Luiz Roberto Ribeiro Castello Branco*

Luiz Roberto R. Castello Branco	Pesquisador Visitante/FBB
Rosa Teixeira De Pinho	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE LEISHMANIOSE
CHEFE: *Gabriel Grimaldi Junior*

Antonia Maria Ramos Franco	Pesquisador Visitante/CNPq
Antônio Teva	Tecnologista
Elisa Cupolillo	Pesquisador Adjunto
Gabriel Grimaldi Junior	Pesquisador Titular
Luiz Eduardo de Carvalho Paes	Tecnologista
Cristiane Bentin Toaldo	Pesquisador Visitante/Faperj

LABORATÓRIO DE PESQUISAS EM AUTO-IMUNIDADE E IMUNO-REGULAÇÃO
CHEFE: *Joseli Lannes-Vieira*

Andrea Alice da Silva	Pesquisador Visitante/UFF
Joseli Lannes Vieira	Pesquisador Associado

LABORATÓRIO DE PESQUISAS EM MALÁRIA
CHEFE: *Claudio Tadeu Daniel Ribeiro*

Claudio Tadeu Daniel Ribeiro	Pesquisador Titular
Dalma Maria Banic	Pesquisador Associado
Joseli de Oliveira Ferreira	Pesquisador Adjunto
Maria de Fátima Ferreira da Cruz	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE PESQUISAS SOBRE O TIMO
CHEFE: *Déa Maria Serra Villa-Verde*

Déa Maria Serra Villa-Verde	Pesquisador Adjunto
Désio Aurélio Farias de Oliveira	Tecnologista
Fernando Pires	Pesquisador Visitante/CNPq
Luiz Anastacio Alves	Pesquisador Associado
Suse Dayse Silva Barbosa	Pesquisador Visitante/Faperj
Valéria de Mello-Coelho	Pesquisador Visitante/Faperj
Wilson Savino	Pesquisador Titular

DEPARTAMENTO DE MALACOLOGIA

HISTÓRICO

Os primeiros estudos sobre moluscos de importância médica e veterinária realizados no Brasil foram conduzidos por Adolpho Lutz, no Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Suas pesquisas sobre a esquistossomose e seus transmissores foram feitas independentemente das de Leiper no Egito, cujas publicações, iniciadas em 1915, tinham sua circulação dificultada pela Primeira Guerra Mundial.

Os resultados das investigações de Lutz foram reunidos em publicações de 1916 a 1919, nas quais são descritos detalhadamente o parasito em todos seus estádios evolutivos no molusco e no vertebrado e a infecção humana e experimental em seus aspectos sintomatológico, patogênico, anátomo-patológico, terapêutico, profilático e ecológico. Durante essas investigações descreveu a técnica que utilizava para a concentração dos ovos do *Schistosoma*, que hoje é freqüentemente referida como método de Hoffman, Pons & Janer, proposto dezoito anos depois. Em outra monografia foram descritas e ilustradas numerosas espécies de moluscos planorbídeos existentes no país, inclusive (com denominações que depois foram sinonimizadas) as três espécies atualmente conhecidas como vetoras naturais do *Schistosoma*. Também deve-se a ele o primeiro levantamento, embora parcial, dos moluscos planorbídeos e da esquistossomose no Brasil, do Rio Grande do Norte até a Bahia.

O Departamento foi criado em 1980, não tendo portanto uma longa história institucional. A exposição a seguir refere-se a investigações feitas por um dos elementos de sua equipe atual, Wladimir Lobato Paraense, a partir de 1954, em colaboração com outras instituições, e a partir de 1976 no próprio Instituto por pequeno grupo de pesquisadores.

Até a década de 50 mais de 250 espécies de planorbídeos haviam sido descritas para a região neotropical (H. W. Harry, *Malacologia* 1: 33-53, 1962), e até trinta anos atrás a sistemática desse grupo zoológico era considerada "geralmente em estado caótico" (E. A. Malek, *Malacologia* 7: 183-209, 1969), sendo as descrições baseadas quase exclusivamente nos caracteres da concha.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Em 1954 o IOC, representado por Lobato Paraense, pesquisador do atual Departamento, associou-se ao Serviço Especial de Saúde Pública, Sesp, para dar prosseguimento a pesquisas incipientes realizadas naquele Serviço sobre moluscos vetores do *S. mansoni*. Tratava-se essencialmente de verificar: 1) se os planorbídeos que ocorriam nas áreas de atuação do Sesp pertenciam a uma única espécie (de acordo com uma das opiniões correntes na época) ou a mais de uma espécie; 2) havendo mais de uma espécie, se todas eram vetoras do parasito; 3) havendo espécies vetoras e não-vetoras, como distingui-las. Do ponto de vista prático, o reconhecimento de espécies não-vetoras em uma região resultaria em apreciável economia de recursos até então aplicados em seu controle. Buscava-se também uma explicação para o fato de ressurgirem populações de planorbídeos em áreas isoladas e intensamente tratadas com moluscicida até completa supressão dos indivíduos existentes.

Esta última questão foi esclarecida em pouco tempo, com o encontro de indivíduos enterrados espontaneamente no leito dos criadouros, que ao voltarem à superfície escapavam à ação não-residual do moluscicida. Essa observação foi confirmada pouco depois em Uganda.

Quanto ao problema das espécies, foi abordado, inicialmente, com a descrição minuciosa da concha e dos sistemas renal, reprodutivo e radular de amostra de uma população representativa, no consenso geral, da espécie *Australorbis glabratus* (atual *Biomphalaria glabrata*). Em seguida, foi feito estudo semelhante de outra forma considerada *A. nigricans* (atual *B. tenagophila*) por vários autores, sendo encontrada apenas uma diferença significativa entre ambas: a presença, na primeira, de uma crista renal, ausente na segunda.

Pensou-se então em investigar o status taxionômico das duas formas adotando o conceito biológico de espécie, para o que seria necessário realizar provas de cruzamento, mas sabia-se que certas espécies de planorbídeos podiam reproduzir-se

por autofecundação. Verificado esse fato em exemplares isolados passamos a procurar um marcador genético que permitisse discriminar os produtos de autofecundação e de fecundação cruzada. O encontro casual de exemplares albinos nas duas formas permitiu a realização das provas de cruzamento. Primeiro verificou-se que nesses casos o albinismo era determinado por um gene recessivo, de modo que os albinos eram necessariamente homozigotos, produzindo exclusivamente albinos por autofecundação; em seguida comprovou-se que o modo habitual de reprodução era por cruzamento, visto como todos os albinos provenientes do ambiente natural produziam, durante certo tempo, apenas descendentes melânicos. Verificou-se depois que um albino de uma das formas reunido a um melânico da outra forma produzia apenas descendentes albinos, indicando completo isolamento reprodutivo. Tratava-se portanto de duas espécies diferentes.

A associação da morfologia com as provas de isolamento reprodutivo facilitou a extensão das investigações a outras formas ocorrentes nas áreas de atuação do Sesp, permitindo definir ou sinonimizar outras espécies nominais.

Em 1955 tentamos esclarecer o problema do vetor no foco de Santos, São Paulo, descoberto em 1923. Tratava-se dos dois primeiros casos autóctones de esquistossomose na cidade, que eram também os primeiros no estado. Entre 1923 e 1955 o planorbídeo local foi determinado por nove especialistas sob seis nomes diferentes, inclusive dois pertencentes a espécies africanas que teriam sido introduzidas durante o tráfico de escravos. Coletamos amostras de dez populações, verificando tratar-se de uma única espécie, indistinguível morfologicamente (concha e anatomia) e geneticamente (cruzamento fértil) da *B. tenagophila*.

Entre os planorbídeos coletados nas áreas estudadas apareciam espécies do gênero *Drepanotrema*, exclusivo das Américas. As espécies desse grupo, atualmente bem definidas, constavam da literatura como pertencentes a gêneros estranhos à região neotropical, como *Anisus*, *Gyraulus* e *Hippeutis*. Esse material foi aproveitado para definir as espécies encontradas, começando pelo *D. anatinum*, espécie-tipo do gênero.

As investigações sobre a *B. glabrata* incluíam espécimes coletados no Nordeste, em áreas sujeitas a forte seca entre setembro e março. Descendentes muito jovens daqueles espécimes, eclodidos no laboratório em Belo Horizonte, simultaneamente à estação seca em sua região de origem, desenvolviam um conjunto de seis lamelas internas na abertura da concha, saíam espontaneamente da água dos aquários e retraíam-se dentro da concha, entrando em um estado de diapausa. Em muitos casos assim permaneciam por mais de dois meses, tempo durante o qual recusavam o ambiente aquático. Ao aceitarem o retorno à água e retomarem o crescimento, ocorria a reabsorção das lamelas. Essas observações mostraram que: 1) a presença de lamelas na abertura da concha confundia esses espécimes com a *B. schrammi*, da qual só se podiam distinguir pelo exame dos órgãos internos; 2) conforme a taxionomia da época, planorbídeos de concha lamelada pertenciam a outros gêneros que não *Australorbis* ou *Biomphalaria*, e assim nossos espécimes lamelados mudariam de gênero ao reabsorverem as lamelas; 3) as lamelas representam um caráter adaptativo desenvolvido por seleção em ambientes sujeitos à ocorrência cíclica de dessecação.

Biomphalaria glabrata, principal vetor do *Schistosoma mansoni* no Hemisfério Ocidental. Espécimes negros (melânicos) e vermelhos (albinos) são usados em experimentos de genética.

As pesquisas realizadas durante os três anos de colaboração com o IOC resolveram os problemas que as suscitaram: nas áreas de atuação do Sesp foram identificadas cinco espécies de *Biomphalaria*: três (*B. glabrata, B. tenagophila* e *B. straminea*) transmitiam e duas (*B. schrammi* e *B. peregrina*) não transmitiam o *Schistosoma*, sendo publicada uma chave anatômica para seu reconhecimento. Satisfeito com os resultados, decidiu o Sesp extinguir o laboratório no final de 1956.

Durante o período de colaboração IOC-Sesp o laboratório foi visitado pelo eminente geneticista Prof. Theodosius Dobzhansky, que desejava conhecer nossa abordagem genética ao problema do cruzamento entre organismos hermafroditas suficientes como são os planorbídeos. Dessa visita resultaram a preparação, a seu pedido, de um artigo, por ele encaminhado para publicação, intitulado *A genetic approach to the systematics of planorbid molluscs*, e sua espontânea recomendação à Fundação Rockefeller (*with warm enthusiasm*, como consta de documento daquela instituição) para apoiar nosso trabalho.

Um dos problemas cruciais na sistemática dos planorbídeos brasileiros era sua posição genérica, cercada de controvérsias. Já havia consenso em relação às "grandes" espécies, situadas no gênero *Australorbis*. Restava definir o gênero *Tropicorbis*, adotado para as "pequenas" espécies, cuja espécie-tipo é o *Planorbis liebmanni* de Veracruz, no México, de anatomia ainda desconhecida. Era necessário também investigar o *Tropicorbis havanensis*, de Cuba, e o gênero *Taphius*, representado por sua espécie-tipo, o *P. andecolus* da parte boliviana do Lago Titicaca, e pelo *P. pronus* do Lago Valencia, na Venezuela. Para solucionar esse problema contamos com o apoio do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), que financiou uma visita às localidades-tipos das espécies pertinentes aos gêneros em questão.

O exame dos exemplares coletados revelou que, do ponto de vista genérico, as quatro espécies (*liebmanni, havanensis, andecolus* e *pronus*) não diferiam do *P. glabratus*, espécie-tipo de *Australorbis*. De acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica deveria ser adotado o nome genérico mais antigo – *Taphius* – que passou a ser usado por vários autores.

Em 1965, a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica, em decisão controvertida que exigiu dois escrutínios e foi criticada por malacólogos preeminentes, recomendou a adoção do nome *Biomphalaria*, sob a alegação de que "especialistas em parasitologia médica e em saúde pública seriam afetados" com a mudança para *Taphius*. Segundo um dos críticos (J. J. Parodiz, *Ann. Carnegie Museum* 40: 164-165), "*if disregard of the International Code in favor, or for the convenience, of any non-systematic group of workers is accepted practice, then taxonomists will face the dilemma of having to choose between the authority prescribed in the Code and arbitrary decisions outside the rules*".

Em dezembro de 1956 o Laboratório recebeu a visita de um grupo de colegas do Instituto Nacional de Endemias Rurais, Ineru, órgão de pesquisa do Ministério da Saúde, instalado em Belo Horizonte no ano anterior, que transmitiam convite do Prof. Amilcar Vianna Martins, Diretor do Instituto, para que nossas investigações tivessem continuidade na nova instituição, o que ocorreu a partir de janeiro de 1957.

Em abril de 1957 visitou-nos o Dr. Harry M. Miller Jr., Diretor Associado da Fundação Rockefeller, que proporcionou significativa ajuda material para o desenvolvimento de nossos trabalhos.

Em prosseguimento à definição das espécies de planorbídeos brasileiros, foram estudados topótipos de *D. cimex, D. depressissimum, D. heloicum, D. kermatoides, D. surinamense, Acrorbis petricola* e *Antillorbis nordestensis*, e foi descrita a nova espécie, *B. intermedia*, encontrada no Brasil e na Argentina.

Tendo sido levantadas dúvidas na literatura sobre a validez da crista renal como caráter diagnóstico da *B. glabrata* em relação à *B. tenagophila*, fizemos uma revisão comparativa das duas espécies, examinando exemplares das respectivas áreas de distribuição: 15.516 *B. glabrata* da Venezuela ao Paraná e 12.776 *B. tenagophila* do Espírito Santo à Argentina. Os resultados confirmaram a especificidade diagnóstica da crista renal.

Depois da descoberta, acima referida, do foco de esquistossomose em Santos, em 1923, foram registrados alguns casos da parasitose no Planalto Paulista e na Alta Sorocabana. Porém o interesse dos pesquisadores só foi estimulado pelo encontro de cinco casos autóctones – sendo vetora a *B. tenagophila* – em Pindamonhangaba, no Vale do Paraíba, onde a proliferação do molusco transmissor é facilitada pela existência de extensos arrozais. Os parasitologistas da Universidade de São Paulo acorreram ao local, coletaram a *Biomphalaria*, mas não conseguiam infectá-la com o *Schistosoma* que mantinham no laboratório. Investigando o assunto, Lobato Paraense e Lygia Corrêa verificaram que o *Schistosoma* utilizado nos laboratórios (inclusive o nosso) era infectante para *B. glabrata*, e não para *B. tenagophila*; mas esse *Schistosoma* do novo foco de São Paulo era infectante para *B. tenagophila*, mas não para *B. glabrata*. Ficou assim demonstrada a existência no Brasil de duas ra-

Cápsula ovífera de molusco planorbídeo com embriões de sete dias de idade. Espécimes melânicos reconhecíveis pelos olhos negros (nos albinos os olhos são inaparentes).

ças biológicas do *S. mansoni*, que denominamos BH (de Belo Horizonte) e SJ (de São José dos Campos), verificando que o cruzamento entre elas produz descendentes que infectam tanto a *B. glabrata* quanto a *B. tenagophila*, em níveis mais baixos que nas combinações originais.

Na década de 50 discutia-se o fato de planorbídeos vetores do *S. mansoni* de sua área geográfica serem refratários ao parasito de outra área. Exemplificando com as observações de W. L. Newton (*J. Parasitol.* 38: 362-366, 1952), a *B. glabrata* de Salvador mostrou-se completamente refratária ao *S. mansoni* de Porto Rico. Tendo em vista a extensão territorial do Brasil e a ampla distribuição da *B. glabrata* através do Continente, Paraense e Corrêa procuraram verificar esse fato expondo 23 populações desse planorbídeo, oriundas de Porto Rico, St. Kitts, Venezuela e, no Brasil, do Pará ao Paraná (que então correspondia ao limite sul de sua distribuição) a uma cepa do *Schistosoma* de Belo Horizonte. Os resultados mostraram uma variação dos índices de infecção de 0% (três populações de Salvador) e 1% (Mascarenhas, no Espírito Santo) a 100% (Peixinhos, em Pernambuco, e Alvinópolis, em Minas Gerais), sem correlação aparente entre o grau de suscetibilidade e a distância entre as origens do parasito e do molusco. Uma das populações de Salvador resistiu incólume a exposições a dez, cinqüenta e cem miracídios por molusco, só cedendo ao ataque de 1.000 miracídios por molusco, quando se infectaram dezenove em 96 exemplares (19,8%). Índices acima de 90% foram observados tanto na área original do parasito (95.1%) como em áreas muito distantes (p. ex. Porto Rico, St. Kitts e Caracas, respectivamente 91.3%, 90% e 92%). Esses resultados indicam que o grau de suscetibilidade das populações depende da freqüência relativa de genótipos resistentes e suscetíveis em cada população.

Investigação semelhante pelos mesmos autores, utilizando *S. mansoni* de São José dos Campos (cepa SJ) e vinte populações de *B. tenagophila* de sua área total de distribuição – de Caravelas, na Bahia a Hormiguero, na Argentina, e Paysandú, no Uruguai – produziu resultado análogo: populações refratárias em Uraí (Paraná), Ubá (Minas Gerais), Cuiabá (Mato Grosso), Hormiguero e Paysandú, e níveis de suscetibilidade de 0.8% em Guaíra (Paraná) a 91.5% em Ana Dias (São Paulo).

Em 1961, a Organização Panamericana da Saúde, Opas, reuniu em Washington um grupo de seis malacólogos, entre os quais Lobato Paraense "a fim de preparar os planos e a divisão de trabalho para a elaboração de um Guia sobre Planorbídeos Americanos", que serviria "para organizar e padronizar os trabalhos sobre esquistossomose nas Américas". Como resultado dessa reunião foi estabelecido, pela Opas, o Centro de Identificação de Planorbídeos para as Américas, Cipa, (*Schistosomiasis Snail Identification Center for the Americas*), sob a direção do referido pesquisador, sendo editado pelo citado grupo de malacólogos, em outubro de 1968, como *Scientific Publication No. 168* da Opas, *A Guide for the Identification of the Snail Intermediate Hosts of Schistosomiasis in the Americas*.

Sob o patrocínio da Opas, foram feitas pelo Cipa excursões de coleta à grande maioria das localidades-tipos dos planorbídeos americanos, com extensão ao maior número possível de outras áreas dos países visitados (Antígua, Argentina, Barbados, Belize, Bolívia, Chile, Costa Rica, Cuba, Equador, Guadeloupe, Guatemala, Guiana, Guiana Francesa, Haiti, Jamaica, Martinica, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Porto Rico, República

Dominicana, Saint Croix, Saint Thomas, Suriname, Trinidad, Uruguai e Venezuela). Como resultado das coletas feitas nesses países foram definidas ou sinonimizadas numerosas espécies.

Em junho de 1968, Lobato Paraense foi requisitado pela Universidade de Brasília (UnB), para exercer a função de coordenador do Instituto Central de Biologia, ficando desligado administrativamente do IOC. Não tendo havido manifestação de interesse do IOC e do Ineru na continuidade das pesquisas malacológicas em andamento, os resultados das investigações realizadas durante esse período (1968-1976) foram obtidos sob o patrocínio da UnB e da Opas e não serão aqui referidos.

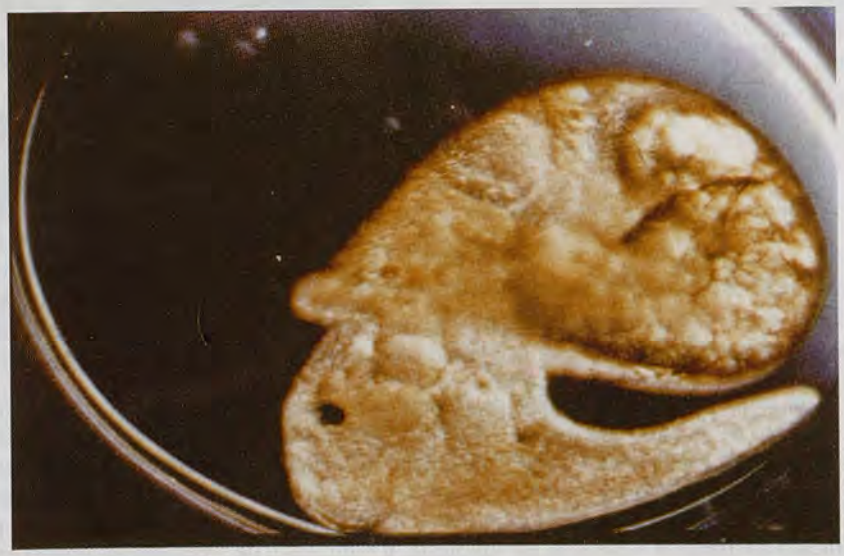
Em 1972 foi instituído pelo Decreto 70.999 o Programa do Trópico Úmido, a ser conduzido pelo CNPq, "destinado a coordenar a contribuição da Ciência e da Tecnologia ao melhor conhecimento das condições de adaptação do ser humano às peculiaridades do Trópico Úmido e à preservação do equilíbrio ecológico da região amazônica". No subprograma Medicina Tropical e Saúde foi destacada a possibilidade de disseminação da esquistossomose na Amazônia em conseqüência da intensificação dos fluxos migratórios para a região. Consultado a respeito, Lobato Paraense, que então servia na UnB, informou que, devido ao quase total desconhecimento da malacologia amazônica, não era possível afirmar a existência de espécies capazes de assegurar a transmissão do *Schistosoma*. Foi-lhe então atribuída a tarefa de fazer o levantamento da fauna planorbídica da região, que teve início durante sua gestão na UnB e foi concluído após seu regresso ao IOC.

Comissionado pelo Convênio de Cooperação Científica Brasil-Argentina, o referido pesquisador excursionou pela Argentina em 1973, coletando moluscos límnicos nas províncias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Misiones, Neuquén, Río Negro, Salta, San Juan, Santa Cruz, Santa Fe, Santiago del Estero e Tucumán.

A partir de 1977, com o retorno de Lobato Paraense ao IOC e a admissão de uma pesquisadora daquela universidade, Lygia dos Reis Corrêa, organizou-se um Laboratório que, em 1980, passou a constituir o atual Departamento, contando atualmente com quatro pesquisadores de carreira e pessoal auxiliar e administrativo, e admitindo bolsistas para treinamento.

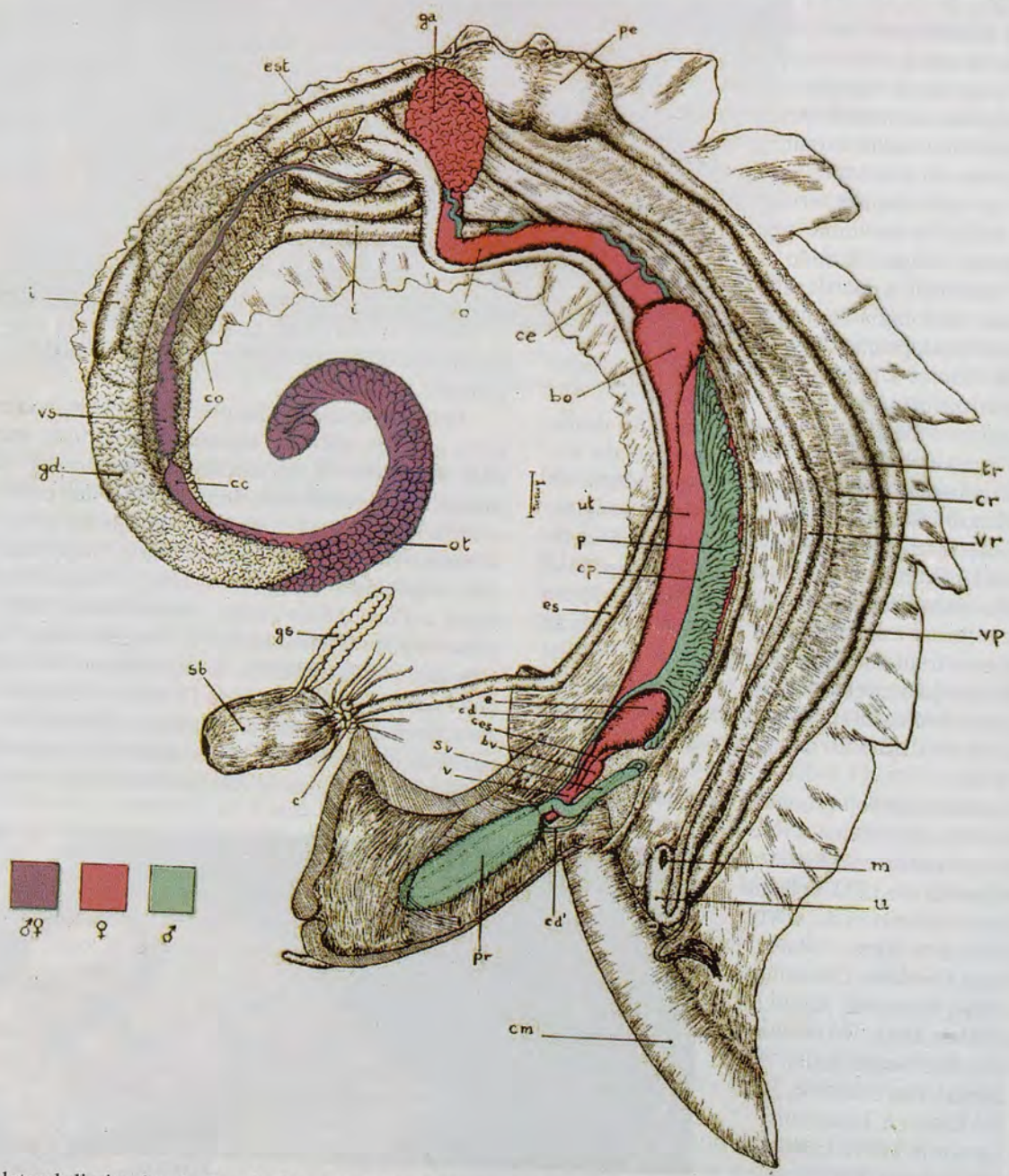
Durante o levantamento de planorbídeos da Amazônia, anteriormente referido, foi verificada a existência, no estado de Mato Grosso (ainda não dividido em norte e sul), de uma nova espécie muito semelhante à *B. tenagophila*, que denominamos *B. occidentalis* e que não é suscetível à infecção pelo *S. mansoni*. Por esse tempo o governo de São Paulo adotava as medidas mais eficientes contra a esquistossomose na área endêmica do estado. Apesar de bem elaborado e executado, esse programa não conseguia deter a expansão da endemia. Depois de muitos anos de árduo combate, observou-se que não ocorriam novos casos na direção oeste, apesar da suposta existência do vetor. Verificamos então a presença da *B. occidentalis* no oeste de São Paulo, indicando que a marcha da esquistossomose naquela direção estava sendo detida pela natureza através de um planorbídeo resistente e não pelas medidas de controle.

Entre os resultados das pesquisas realizadas nesta nova unidade, além de algumas já referidas, merecem registro: 1) definição taxionômica dos planorbídeos brasileiros, totalizando vinte espécies e uma subespécie, distribuídas pelos gêneros *Acrorbis* (uma), *Antillorbis* (uma), *Biomphalaria* (dez espécies e uma subespécie), *Drepanotrema* (sete) e *Plesiophysa* (uma). Além dessas, uma espécie exótica (*Helisoma duryi*), originalmente descrita nos Estados Unidos, foi identificada no estado de Goiás; 2) redescrição do *D. cimex*, variação dos caracteres da concha e anatômicos, distribuição geográfica: oito países do Caribe; dezenove estados brasileiros do Amazonas ao Rio Grande do Sul; Paraguai,



Embrião de molusco planorbídeo prestes a eclodir

Uruguai e Argentina; 3) distribuição dos planorbídeos e prevalência da esquistossomose no Espírito Santo, cobrindo todos os municípios; 4) pimeiro registro da ocorrência da *B. glabrata* no Piauí e em Belém e Viseu, Pará, com intensa transmissão do *S. mansoni* nos dois municípios; 5) definição, por vias anatômica e genética, da *B. kuhniana*, baseada em topótipos do Suriname, e primeiro registro de sua ocorrência no Brasil; 6) comprovação da introdução e dispersão da *B. straminea* na ilha de Guadeloupe; 7) primeiro registro da ocorrência da *B. straminea* na República Dominicana; 8) definição anatômica da *B.*



Vista lateral direita dos órgãos de *Biomphalaria glabrata* após dissecção do manto e do saco bucal. **bo** = bolsa do oviduto, **bv** = bolsa vaginal, **c** = cérebro (gânglios periesofagianos), **cc** = canal coletor do ovoteste, **cd** = segmento proximal do canal deferente, **cd'** = segmento distal do canal deferente, **ce** = canal espermático, **ces** = canal de espermateca, **cm** = colar do manto, **co** = canal ovispermático (canal hermafrodita), **cp** = canal prostático, **cr** = crista renal, **e** = espermateca, **es** = esôfago, **est** = estômago, **ga** = glândula do albume, **gd** = glândula digestiva, **gs** = glândula salivar, **i** = intestino, **m** = meato do ureter, **o** = oviduto, **ot** =ovoteste, **p** = próstata, **pe** = pericárdio, envolvendo o coração, **pr** = prepúcio, **sb** = saco bucal, **sv** = saco vérgico (bainha do pênis), **tr** = tubo renal, **u** = ureter, **ut** = útero, **v** = vagina, **vp** = veia pulmonar, **vr** = veia renal, **vs** = vesícula seminal

subprona da Guatemala; 9) primeiro registro da *B. straminea* na Costa Rica, além de *B. helophila, D. anatinum, D. de-pressissimum, D. lucidum* e *Helisoma trivolvis*; 10) primeiro registro da *B. straminea* no Uruguai e demonstração de sua alta suscetibilidade à infecção pelo *S. mansoni*; 11) descrição da nova subespécie *B. tenagophila guaibensis*, do sul do Brasil e da Argentina; 12) demonstração, por via anatômica, da sinonimia de *Acrorbis petricola* do Brasil com *A. odhneri* da Argentina; 13) encontro no Peru de *Aroapyrgus colombiensis* e *Littoridina cumingii*, vetores potenciais de *Paragonimus*; 14) distribuição de *Lymnaea viatrix* e *L. columella* na região neotropical, compreendendo material coletado em 105 localidades de dezoito países, inclusive o Brasil; 15) primeiros registros de Lymnaeidae no Brasil ao norte da latitude 15°S (paralelo de Brasília), na Bahia e no Amazonas; 16) demonstração, por via anatômica, da sinonimia de *L. columella* com *L. peregrina* do Rio Grande do Sul; 17) definição anatômica da *L. elodes* do México; 18) definição anatômica, baseada em topótipos, da *L. cousini* de Chillogallo, Equador, e da *L. diaphana*, do Estreito de Magalhães, no Chile; 19) descrição da nova espécie *L. rupestris*, do sul do Brasil; 20) definição anatômica da *Physa marmorata* e da *P. cubensis*, baseada em topótipos, respectivamente da ilha de St. Vincent e de Cuba; 21) definição anatômica, por Silvana Thiengo, dos Ampullariidae *Pomacea lineata* (topótipos da Bahia), *P. sordida* do Rio de Janeiro e *P. canaliculata* de Corrientes, Argentina; 22) descrição da ultra-estrutura da chamada "espermateca" da *B. glabrata* e conseqüente definição de sua função; 23) descrição da ultra-estrutura dos espermatozóides da *B. glabrata* e do *S. mansoni*; 24) identificação dos órgãos do sistema reprodutor dos planorbídeos em que têm lugar a autofecundação e a fecundação cruzada.

O Departamento possui material preservado e colônias de laboratório de moluscos de águas continentais das famílias Planorbidae, Lymnaeidae, Physidae, Ancylidae, Chilinidae e Ampullariidae. Atualmente a coleção malacológica possui pouco mais de 4.500 lotes de conchas e respectivas partes moles, cobrindo o continente americano dos Estados Unidos à Terra do Fogo, a região do Caribe e alguns países de outros continentes. Os moluscos aí representados são estudados tanto do ponto de vista médico e veterinário, como vetores de parasitos, quanto do ponto de vista puramente biológico, visando ao progresso do conhecimento desse importante grupo zoológico.

O trecho transcrito a seguir, do Relatório de um Comitê de Peritos (*Technical Report Series* 643, 1980) da Organização Mundial da Saúde, reflete em sua quase totalidade os resultados de nosso trabalho:

"*Hospedeiros do Schistosoma mansoni.* – O gênero *Biomphalaria* é representado nas Américas por cerca de 20 espécies, 15 das quais foram bem definidas por critérios morfológicos (conquiliológicos e anatômicos), sendo a definição substanciada em casos especialmente difíceis por critérios genéticos (experiências de cruzamento). Dessas 15 espécies bem definidas, apenas *B. glabrata, B. straminea* e *B. tenagophila* têm sido encontradas naturalmente infectadas pelo *S. mansoni*. Várias outras espécies têm sido implicadas como hospedeiros experimentais, mas o status taxionômico de algumas delas é questionável. Das três espécies encontradas naturalmente infectadas, *B. glabrata* parece ser a mais eficiente em termos de transmissão. As populações de *B. glabrata* e *B. tenagophila* mostram considerável variação nos níveis de suscetibilidade em diferentes áreas geográficas. A taxionomia das espécies africanas tem, até certo ponto, permanecido atrasada em relação às formas americanas, que podem ser identificadas com maior grau de confiança. Tem havido realmente pouca modificação no status taxionômico dos bionfalarídeos africanos durante as duas últimas décadas, e a maioria dos autores ainda segue a classificação proposta por Mandahl-Barth (1958)".

Atualmente, em conseqüência principalmente de nossas investigações, foram definidas 113 das cerca de 250 espécies nominais de planorbídeos neotropicais acima referidas, sendo 25 válidas e 88 sinônimas, além de oito novas espécies, faltando definir cerca de 140.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

O Departamento prosseguirá em sua linha de pesquisa sobre sistemática, genética, biologia da reprodução, e eventualmente sobre outros aspectos da biologia dos gastrópodes da Região Neotropical, com ênfase nos vetores de parasitos.

DEPARTAMENTO DE MALACOLOGIA
CHEFE: *Lygia dos Reis Corrêa*

LABORATÓRIO DE MALACOLOGIA
CHEFE: *Wladimir Lobato Paraense*

Lygia dos Reis Corrêa	Pesquisador Titular
Monica Ammon Fernandez	Pesquisador Adjunto
Silvana Carvalho Thiengo	Pesquisador Associado
Wladimir Lobato Paraense	Pesquisador Titular

DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL

HISTÓRICO

Embora o Departamento somente tenha sido criado oficialmente com os demais departamentos do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), em 1980, a atividade da medicina tropical já existia, de fato, desde os primórdios da criação do Instituto.

Em a *Escola de Manguinhos*, segundo capítulo da parte em *fac-simile* deste livro, Olympio da Fonseca Filho caracteriza bem a medicina tropical, quando fala de "Manguinhos no Interior do Brasil", filiais, postos, expedições e viagens de exploração científica.

Os postos avançados ou "filiais", como eram chamados, constituíram-se, inicialmente, em Belo Horizonte, sob a direção de Ezequiel Dias, e em São Luís do Maranhão, organizado e dirigido por Cássio Miranda. Da mesma forma "as estações de pesquisa", de âmbito mais restrito, para estudos locais, como a de Lassance, entregue a Carlos Chagas, e o posto de Bambuí, criado em 1943 por Henrique Aragão e entregue a Emmanuel Dias, são exemplos de postos avançados. Numerosas viagens e expedições foram desenvolvidas pelos técnicos de Manguinhos, praticamente para todos os estados do Brasil, com grandes esforços e até com o sacrifício de vidas.

Foi com esse objetivo que José Rodrigues Coura, quando veio convidado da Universidade Federal do Rio de Janeiro para dirigir o IOC e a Vice-presidência de Pesquisa da Fiocruz, em 1979, colocou como condição, para aceitar o cargo, a criação do Departamento de Medicina Tropical e o desenvolvimento de cursos de pós-graduação nesta área e em biologia parasitária, a fim de que pudesse continuar programas que vinham sendo desenvolvidos, por ele, naquela universidade.

Aceita a sugestão, passou-se a reformar o Pavilhão Arthur Neiva (Pavilhão de Cursos), na época abandonado há dez anos, e nele se instalou o Departamento com os seguintes objetivos: 1) desenvolver os projetos de pesquisa sobre estudos seccionais e longitudinais sobre esquistossomose e doença Chagas, integrando atividades epidemiológicas de campo e laboratoriais, em projetos subsidiados pelo Programa Integrado de Doenças Endêmicas do CNPq (Pide); 2) desenvolver o Curso Básico de Biologia Parasitária, visando preparar alunos para o mestrado em todas as áreas de concentração do IOC, inclusive na medicina tropical; 3) recuperar a revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, que estava paralisadas, naquela época, há mais de cinco anos. Em 1980 iniciaram-se as atividades do Departamento e dos cursos e foram recuperadas as *Memórias*.

A partir de 1985, com a nova direção do Instituto, desmembrou-se o Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical do Curso Básico, passando a integrar o Departamento, com registro do mestrado e posteriormente do doutorado no Conselho Federal de Educação. O Departamento e o novo curso tomaram, então, um grande impulso com a nova chefia do Departamento, que se organizou em uma divisão de doenças parasitárias, dirigida por José Rodrigues Coura, e outra de hanseníase, dirigida por Euzenir Nunes Sarno.

Em 1991, o Laboratório de Biologia e Controle da Esquistossomose, dirigido por Luis Rey, integrou-se ao Departamento e, em 1993, ocorreu o mesmo com o Núcleo de Interação *T. cruzi*-vetores da doença de Chagas, dirigido por Alina Perlowagora Szumlewicz.

Atualmente, o Departamento é formado pelos seguintes laboratórios: Doenças Parasitárias, Hanseníase, Biologia e Controle da Esquistossomose e o Núcleo de Interação *T. cruzi*-vetores da Doença de Chagas, integrado ao Laboratório de Doenças Parasitárias.

Laboratório de Doenças Parasitárias

O Laboratório é constituído pelos seguintes setores: epidemiologia da doença de Chagas, parasitoses intestinais, caracterização de tripanossomatídeos, reação em cadeia da polimerase (PCR), sorologia, insetário, biotério, canil, salas de aula, documentação médica, computação, escritórios para a chefia, para pesquisadores e para alunos de pós-graduação. Com o falecimento de Alina Szumlewicz, em 1997, o Núcleo de Interação *T.cruzi*-vetores da Doença de Chagas integrou-se ao Laboratório.

Pesquisas de campo e teses desenvolvidas nos últimos dez anos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias

O Laboratório coordena o Curso de Pós-graduação (mestrado e doutorado) em Medicina Tropical, que vem povoando o Brasil de Norte a Sul e de Leste a Oeste com mestres e doutores da mais elevada qualidade, nos mais diversos assuntos relacionados às doenças infecciosas e parasitárias e à medicina tropical. Até o final de 1999 tínhamos apresentadas, defendidas e aprovadas 45 teses de mestrado e 18 de doutorado.

Várias pesquisas de campo são realizadas nos estados de Minas Gerais, Paraíba, Piauí, Mato Grosso do Sul e Amazonas, enquanto numerosos projetos de tese de mestrados e doutorado têm sido ou estão sendo desenvolvidos em outros estados do Brasil, conforme demonstra a figura acima.

Laboratório de Hanseníase

Os estudos sobre hanseníase no IOC datam do início do século, quando por influência de Adolpho Lutz, que propusera o novo gênero *Coccothrix* para o *Mycobacterium leprae,* descoberto por Hansen em 1874, Gustavo de Oliveira Castro e Heraclides Cezar de Souza Araujo, iniciaram aqueles estudos. Souza Araujo foi o mais persistente dos pesquisadores, tentando, durante mais de quarenta anos cultivar em meio artificial e em inoculação em animais o bacilo da lepra.

O Laboratório originou-se do antigo Instituto de Leprologia, que durante muitos anos funcionou como Centro de Referência Nacional e Internacional para Lepra e, em 1975, foi transferido para o campus de

Manguinhos, dispondo de um ambulatório e dos laboratórios de bacteriologia, imunologia e anatomia patológica. Parte de sua biblioteca foi incorporada à Biblioteca Central da Fiocruz. Em 1976 o Instituto de Leprologia perde sua autonomia, assim como os demais órgãos da Fiocruz. Após funcionar como XV Coordenação Especial, foi transformado em Setor de Hanseníase do Departamento de Bacteriologia e, em 1985, transferido para o Departamento de Medicina Tropical.

Apesar da desestruturação oficial, o grupo se manteve ligado ao Ministério da Saúde produzindo os insumos necessários para o diagnóstico de hanseníase, oferecendo treinamento especializado, cooperando nas guias e documentos. As atividades assistenciais foram também mantidas, com um número crescente de pacientes sob tratamento. Em 1985, o Ministério da Saúde foi alertado, pela comunidade internacional, da grave expansão da lepra no Brasil, o que determinou mudanças administrativas profundas, que repercutiram no Setor de Hanseníase, com a formulação de dois projetos de pesquisa, financiados pela Finep, diretamente ligados ao programa *Um novo esquema terapêutico para a lepra*, recomendado pela OMS, e *Avaliação da resistência à droga induzida pelo tratamento tradicional*.

A partir de 1987, o então denominado Setor de Hanseníase, que posteriormente passaria a ser classificado como Laboratório, iniciou um processo profundo de reestruturação e formação de recursos humanos. As metas foram estabelecidas, assim como as estratégias que permitissem alcançá-las.

Alguns acontecimentos foram fundamentais para possibilitar a efetiva reestruturação que ocorreu de forma gradual, com aproveitamento de todos aqueles que apresentaram interesse e potencial de trabalho: 1) contratação de novos profissionais, inicialmente através de projetos e posteriormente por contratos que vieram progressivamente substituir as aposentadorias, afastamentos e transferências; 2) obtenção de recursos externos, principalmente originários da OMS, que têm mantido financiamento de projetos (até o momento cinco projetos, desde 1987) permitindo a continuidade e a constante avaliação e autocrítica das atividades científicas; 3) a motivação demonstrada pelos novos pesquisadores contratados através de estágios, com duração variando de seis meses a três anos, em conceituados centros de pesquisa. Sete pesquisadores realizaram estágios no exterior, criando importantes colaborações internacionais, permitindo a aquisição de novas metodologias e atualização de conhecimentos.

Dentro desse contexto, oito pesquisadores defenderam tese de doutorado e sete de mestrado. O conhecimento gerado, decorrente não só desses trabalhos, como também de grande número de teses de estudantes de outras instituições orientadas por pesquisadores do Laboratório, contribuiu significativamente para firmar o nome da Fiocruz na comunidade nacional e internacional da lepra como também trouxe importantes contribuições científicas e operacionais a essa moléstia.

O Laboratório é Centro de Referência, credenciado pelo Ministério da Saúde, e desenvolve atividades de pesquisa, ensino e assistenciais. As pesquisas são realizadas nas áreas clínica, epidemiológica, imunológica, imunopatológica, bioquímica e biologia molecular com a infecção hansênica e outras micobactérias. Na área assistencial são realizadas em torno de 5.000 consultas/ano, recebendo o paciente tratamento altamente qualificado com acompanhamento de especialistas em neurologia, oftalmologia e otorrinolaringologia. As atividades de ensino abrangem as áreas técnicas de vocação e iniciação científica, aperfeiçoamento, especialização e pós-graduação (mestrado e doutorado).

Os pesquisadores e técnicos do Laboratório realizam assessorias técnicas para o Ministério da Saúde e secretarias de estados e municípios em todo o país, organizando e ministrando cursos da atualização e reciclagem para os profissionais da saúde de níveis médio e superior que atuam na rede assistencial nos programas de controle e eliminação da hanseníase. Participam na elaboração de manuais e guias oficiais sobre normas de tratamento e controle de infecção hansênica e fazem parte do Comitê Técnico Científico de Assessoramento à Área Técnica de Hanseníase da Secretaria de Políticas de Saúde.

Laboratório de Biologia e Controle da Esquistossomose

Luis Rey, exilado durante o período da ditadura, já tinha um percurso como parasitologista e sanitarista na Universidade de São Paulo. Ao regressar ao Brasil, assumiu a chefia do Departamento de Helmintologia e remontou seu laboratório de pesquisa no IOC.

O Laboratório, criado em 1989 no Departamento de Biologia, foi concebido com a proposta de desenvolver estudos sobre a participação de roedores silvestres na transmissão da esquistossomose mansônica e sobre a utilização desses roedores como modelo experimental alternativo para ensaios biomédicos, com ênfase na relação parasita-hospedeiro. Entre 1989 e 1990, quando Luis Rey foi chefe do Departamento de Biologia, estabeleceram-se vínculos interdepartamentais, particularmente com os de Patologia e Helmintologia, com os setores de Parasitologia da Uerj e da UFRJ, com o Departa-

mento de Ecologia da UFRJ e com outras instituições nacionais e internacionais.

O núcleo de pesquisadores, composto de professores e cientistas da UFRJ, Inca, Fiocruz e Uerj tem colaborado durante anos em projetos comuns de biologia de populações na área da biodiversidade e áreas correlatas em evolução, biogeografia e saúde com livre circulação de pesquisadores e estudantes, uso comum de equipamentos e facilidades. Em 1991 o Laboratório foi transferido para o Departamento de Medicina Tropical.

O Laboratório está, há vários anos, estudando detalhadamente a epidemiologia da esquistossomose em uma área endêmica no município de Sumidouro, RJ, de baixa prevalência, onde os serviços de saúde (Dneru, Sucam, FNS) estiveram operando por mais de vinte anos sem conseguir erradicar a esquistossomose. A prática mostrou a necessidade de se utilizar, além dos recursos da parasitologia, da malacologia e da epidemiologia, os da zoologia e da ecologia de roedores, estudando a estrutura de suas populações, com recursos genéticos, e o comportamento dessas populações animais no ecossistema onde circula o *Schistosoma mansoni*.

Atualmente, o foco das pesquisas do Laboratório é o estudo de várias comunidades de pequenos mamíferos com características ecológicas distintas, porém sempre relacionadas a ciclos de parasitas que afetam o homem. Para esse fim, tem estudado, junto com sua rede de colaboradores, espécies de interesse, incluindo suas estruturas populacionais, estratégias bionômicas, adaptações e distribuições geográficas e seus níveis de infecção parasitária. Essas abordagens são a base ecológica para o estudo e o controle de várias endemias importantes. Desse modo, tem colaborado em projetos sobre reservatórios silvestres da *Leishimania* sp. em Paracambi, RJ, do *Trypanosoma cruzi* na região de Barcelos, AM, e na região de São Raimundo Nonato, PI, e da febre maculosa em Pedreira, SP.

Maria José Conceição, pesquisadora da UFRJ e visitante do Departamento desde 1978, integrou-se à equipe, em 1998, desenvolvendo, em colaboração com diversos grupos, estudos sobre a transmissão da esquistossomose no município de Capitão Andrade, MG, e fazendo o acompanhamento de casos ambulatoriais.

Núcleo de Interação *T. cruzi*-vetores da Doença de Chagas

O Núcleo é originário do Laboratório de Biologia e Controle de Vetores do antigo Núcleo Central de Pesquisas do Ineru-Fiocruz, organizado e chefiado por Alina Szumlewicz, em Jacarepaguá.

No início da década de 70, suas principais linhas de pesquisa eram o estudo da biologia de diversas espécies de triatomíneos; a busca de um inseto modelo experimental para o xenodiagnóstico, visando à otimização desse exame; a hibridização interespecífica entre diversas espécies, procurando demostrar o grau de isolamento reprodutivo existente; estudos sobre a interação parasito-vetor como, por exemplo, a influência da espécie vetora na metaciclogênese do *T. cruzi*.

No início da década de 90, o Núcleo, ainda sediado em Jacarepaguá, foi transferido do Departamento de Entomologia para o de Medicina Tropical e, em 1997, para o campus de Manguinhos. No mesmo ano falecia Alina Szumlewicz, passando o Núcleo a integrar o Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Doenças Parasitárias

Estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas – Diversos projetos sobre prevalência e morbidade da doença de Chagas vêm sendo desenvolvidos, desde 1973, nos municípios de Iguatama, Pains, Virgem da Lapa, Berilo, Coronel Murta e Santa Cruz do Escalvado, em Minas Gerais; Oeiras, Colônia e João Costa, no Piauí; em oito municípios do Sertão da Paraíba e, mais recentemente, em doze municípios do Distrito Sanitário de Rio Verde, no Mato Grosso do Sul, visando avaliar as características epidemiológicas e as variações regionais da doença de Chagas humana em diferentes áreas do Brasil. Dentro dessas linhas foram realizadas os seguintes estudos: 1) a resposta imune humoral através de testes sorológicos avaliando o comportamento da infecção chagásica nas populações, os níveis de anticorpos em função das formas clínicas, os índices de reatividade frente a diversos antígenos utilizados e em função do tratamento específico; 2) a parasitemia através do xenodiganóstico e da reação em cadeia da polimerase (PCR) na avaliação da positividade, da associação com o processo evolutivo da doença em pacientes submetidos ao tratamento específico; 3) a morbidade cardíaca e digestiva através do exame clínico, eletrocardiográfico, radiológico e ecocardiográfico, definindo as prevalências, gravidade e percentuais de evolução da doença; 4) a proporção de participação do componente etiológico exclusivamente chagásico na prevalência de cardiopatia e do megaesôfago nas populações; 5) o risco de morte do chagásico crônico em função da gravidade da doença.

Estudo da infecção chagásica e de outras tripanossomíases em áreas do médio e alto Rio Negro, estado do Amazonas – Os objetivos da pesquisa são: 1) estudar a dinâmica de transmissão da infecção chagásica e de outras tripanossomíases em populações das sedes dos municípios de Barcelos, Santa Isabel e São Gabriel da Cachoeira e em populações ribeirinhas de afluentes do Rio Negro e de piaçabais daquela região; 2) determinar reservatórios e vetores silvestres e a possibilidade de adaptação desses triatomíneos ao domicílio humano; 3) avaliar o comportamento morfológico, biológico, bioquímico e molecular de cepas de tripanossomatídeos isoladas do homem, de reservatórios e de vetores silvestres daquela região e estudar a sua homologia e as relações filogenéticas com cepas de outras origens.

Até a presente data foram realizados três inquéritos sorológicos na sede do município de Barcelos e de afluentes do Rio Negro, mostrando elevada prevalência sorológica da infecção. Foram capturados diversos animais e vetores silvestres (*Rhodnius brethesi)* e isoladas várias cepas de *Trypanosoma cruzi* e *T. rangeli* desses reservatórios, de vetores e de seres humanos, com características morfológicas, biológicas e bioquímicas peculiares. A observação do "ataque" de populações humanas pelo *R. brethesi* e a baixa morbidade da infecção chagásica, bem como a caracterização das cepas de *T. cruzi* isoladas de reservatórios, de vetores e dos humanos como da linhagem silvestre (*T. cruzi* I), caracterizam a infecção como uma *antropozoonose,* cujo estudo é de grande importância para a compreensão da evolução da doença de Chagas na natureza.

Epidemiologia molecular da doença de Chagas, leishmaniose e oncocerose: diagnóstico e tipagem molecular dos seus respectivos agentes etiológicos – O Laboratório desenvolve técnicas ligadas especificamente ao diagnóstico molecular (PCR e hibridização molecular) para a detecção de DNA de parasitos como *T. cruzi*, *Leishmania* sp. e *Onchocerca volvulus* em distintos materiais provenientes de humanos, reservatórios animais e vetores. Utilizando alvos moleculares repetitivos no genoma desses parasitos obtem-se uma alta sensibilidade, podendo-se determinar com precisão índices epidemiológicos como taxa de infecção e prevalência. Associado à possibilidade do diagnóstico molecular dispomos de infra-estrutura adequada para a realização de experimentos de tipagem molecular de parasitos. Para tanto, alvos como os genes de miniexon, genes ribossômicos e moléculas de minicírculos são caracterizados através de técnicas como PCR, hibridização molecular e RFLP com o intuito de se determinar subpopulações parasitárias circulando entre distintos hospedeiros e ecótopos naturais. Acoplam-se, ainda, para estudos de genética populacional e filogenia desses parasitos, técnicas como RAPD, cariotipagem molecular, clonagem e seqüenciamento de alvos específicos.

Biologia de vetores da doença de Chagas e sua interação com o Trypanosoma cruzi – Desenvolve-se, atualmente, o estudo de aspectos da biologia de espécies ainda consideradas silvestres ou em vias de domiciliação. Os principais aspectos analisados são a resistência ao jejum prolongado e a di-

Infecção chagásica em colhedores de piaçava no médio e alto Rio Negro, estado do Amazonas, transmitida por *Rhodinius brethesi*

nâmica evolutiva dos diversos estádios ninfais, quando alimentados uma única vez.

Em parceria com o Núcleo de Morfologia Anatomia Interna e Ultra-estrutura de Artrópodos Vetores do Departamento de Entomologia, analisa-se, comparativamente, a estrutura de ovos, ninfas e adultos das espécies *Rhodnius brethesi*, Matta 1919, *R. neglectus* Lent, 1954 e *R. prolixus*, Stal 1859, com interesse taxonômico. Estão sendo feitos estudos dos processo de metaciclogênese em várias espécies vetoras, infectadas com diversas cepas do *T. cruzi* e *T. rangeli* enfocando principalmente os aspectos moleculares dessa interação em diferentes compartimentos digestivos do vetor. Os estudos estão sendo realizados em colaboração com o Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.

Um outro estudo em curso é a análise comparativa do potencial vetorial entre diferentes espécies vetoras infectadas com cepas de *T. cruzi* isoladas na Amazônia brasileira com cepas padrão desses parasitos.

Estudos sobre helmintos e protozoários intestinais – O setor de parasitoses instestinais do Laboratório tem como objetivo estudar os fatores de risco e a dinâmica de transmissão das principais parasitoses intestinais humanas; avaliar as repercussões sistêmicas dessas parasitoses em nível imunológico, clínico e de possível interação com outras doenças; estudar as parasitoses emergentes e não-emergentes em pacientes imunossuprimidos.

Mico-leão-dourado, reservatório Silvestre do *Trypanosoma cruzi* II (Fernandes & Jansen, 1999). Foto: Rodrigo Mexas

Alguns projetos têm sido desenvolvidos em áreas do médio e alto Rio Negro, estado do Amazonas, em conjunto com o Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical, e estão relacionados a investigações de prevalênica e de dinâmica de transmissão das parasitoses intestinais. Com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro e o Laboratório de Parasitologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto têm sido estudados os fatores de risco para algumas parasitoses, dentre elas a estrongiloidíase, doença de extrema gravidade em imunossuprimidos. Em conjunto com o Laboratório de Hanseníase do Departamento, investiga-se o comportamento das subpopulações de linfócitos T (CD_4, TH_1 e TH_2) na infecção crônica por essa doença. Com o setor de diagnóstico por PCR do Laboratório, estamos iniciando a caracterização de larvas de *Strongyloides stercoralis*, com o objetivo de identificar possíveis variações intra-específicas.

Labortório de Hanseníase

As micobactérias e os mecanismos envolvidos na resposta imune protetora e patogênica – Dentro desta linha de estudo pergunta-se, fundamentalmente, quais os mecanismos que determinam o risco de adoecer e quais os fatores que influenciam a distribuição polar da hanseníase? Este estudo se iniciou com o projeto *Characterization of high risk population among household contacts of leprosy patients by in vitro production of interferon-gamma* (financiado pela OMS, 1987), quando se demonstrou a associação entre a produção de interferon-gama (IFNγ) *in vitro* em resposta ao *Mycobacterium leprae* e à resistência para adoecer entre contatos de pacientes multibacilares. A heterogeneidade clínica observada em pacientes tuberculóides também se correlacionou com a heterogeneidade na produção de IFNγ e a proliferação de células T em resposta à bactéria *in vitro*. Em um segundo projeto *Definition of cytokine project correlates of leprosy susceptibility and resistance in Brazil* (OMS, 1993), a produção de outras citocinas foi comparada em indivíduos com diferentes graus de exposição e níveis de resistência ao *M. leprae,* demonstrando que diferentes balanços entre citocinas pró- e antiinflamatórias estão associados à proteção e ao aparecimento de doença clínica na interação patógeno-hospedeiro. Um possível papel do TNFα, tanto na proteção como na patogênese, foi também sugerido. A participação de componentes do *M. leprae* na regulação da resposta imune foi demonstrada em outro projeto (*Componentes não protéicos de parede micobacteriana na resposta imune a micobactérias* - PADCT, 1994) indicando

que componentes do bacilo podem interferir com a ativação de células T, modulando a resposta imune específica à bactéria, interferindo desse modo nas formas clínicas da doença. Atualmente, encontra-se em investigação o efeito de micobactérias e seus componentes nas vias de sinalização da célula hospedeira [*Effect of Mycobacterium leprae and phenolic glycolipid-I (PGL-I) on protein kinase C (PKC) activity and isoform expression* - Heiser Foundation, 1998; *Vias de sinalização e metabolismo de ferro em monócitos humanos infectados com micobactérias* - Papes, 1997]. A interferência da bactéria nessas vias poderia representar um mecanismo de patogenicidade acarretando disfunção celular e ausência de resposta imune efetora em indivíduos suscetíveis. Resultados preliminares indicam que o PGL-I inibe a enzima proteína kinase C, podendo a bactéria, possivelmente, interferir nas vias de ativação em monócitos e linfócitos.

Regulação da produção de citocinas envolvidas na patogênese dos processos imunoinflamatórios da lepra – Temos como objetivo principal identificar os mecanismos de lesão tecidual na lepra, levando-se em consideração a impossibilidade de se demonstrar a ação patogenética direta do bacilo nos tecidos destruídos durante a doença. A linha de pesquisa se iniciou com o projeto *Cytokines and nerve damage in lepromatous leprosy* (OMS, 1990) que sugeriu o TNFα como a molécula central nos eventos clínicos de agudização da hanseníase e demonstrou, pela primeira vez, o papel chave do TNFα nos estados reacionais da lepra (eritema nodoso leproso, ENL), utilizando-se ensaios clínico e *in vitro*. Posteriormente confirmou-se que a ativação da produção de TNFα ocorria também na resposta imune celular, mesmo naqueles pacientes clinicamente definidos como não respondedores. Além dos testes *in vitro* tradicionais para avaliação da resposta imune celular, utilizou-se a determinação da expressão de RNAm de citocinas (através de RT-PCR) nas lesões agudas e sob o efeito do tratamento antiinflamatório. Foi possível, assim, demonstrar pela primeira vez que a talidomida (a droga de escolha para tratamento do ENL) tinha a propriedade de inibir especificamente a produção de TNFα, atuando na degradação do seu RNAm. Este achado teve impacto não só para um melhor entendimento dos mecanismos patogenéticos da hanseníase como também para várias outras doenças que cursam com níveis elevados de TNF. Recentemente, outras drogas inibidoras da síntese de TNFα, tais como pentoxifilina e corticóides, estão sendo alvo de estudos clínicos e *in vitro* no Laboratório (projetos *Avaliação do efeito da pentoxifilina no erythema nodosum leprosum* - FNS, 1998; *Ensaio comparativo do tratamento de ENL com o uso de pentoxifilina e de corticóide* - Papes/Fiocruz, 1997).

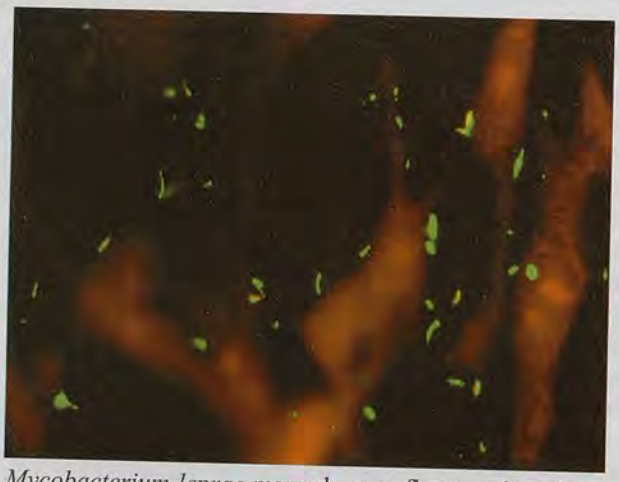
A seguir, desenvolveram-se estudos (projetos *Mechanisms of induction and regulation of inflammatory mediators in the reactional states in leprosy: attempt to prevent disabilities* - OMS, 1993; *Mediadores inflamatórios nos estados reacionais da lepra: identificação de células produtoras in vitro e in vivo* - CNPq, 1993; *Análise qualitativa e semiquantitativa da expressão de genes de ativação precoce em lesões reacionais da lepra pelo método de RT-PCR* - CNPq, 1997) com o objetivo de se entender os mecanismos de regulação e amplificação da produção de TNFα. Resultados mais recentes identificaram: 1) a expressão de RNAm de IFNγ e IL-12 (citocinas capazes de aumentar direta ou indiretamente a produção de TNFα *in vitro*) presentes no local da lesão; 2) a participação do linfócito T como amplificador da produção de TNFα através do contato célula T-monócito, 3) a participação de outras células na produção de TNFα *in vitro* como linfócitos T e neutrófilos; d) a regulação da produção da citocina ao nível do gene de TNFα.

A descrição, nos últimos anos, da existência de mutações no promotor do gene de TNFα que se relacionava com a capacidade individual de produzir níveis diferentes da citocina em várias doenças, levantou a hipótese de que, na lepra, o polimorfismo do TNF estaria controlando a susceptibilidade dos doentes a apresentarem estados reacionais (projeto *TNFα mediates tissue damage in leprosy: interindividual susceptibility linked to the risk of reaction* - OMS, 1997). Além do TNFα, a presença de mutação nos genes de outras citocinas está sendo investigada. No estudo, selecionaram-se cerca de 1.000 pacientes com diferentes quadros clínicos da doença, cujos DNAs foram extraídos e tipados para as diversas mutações. A análise acha-se em andamento.

Levando-se em consideração que a repercussão das reações é representada fundamentalmente pelas lesões neurais, decidiu-se focar também a atenção em diferentes aspectos da interação do *M. leprae* com componentes celulares e da matriz dos nervos periféricos. A capacidade do *M. leprae* de infectar a célula de Schwann é uma característica única do bacilo entre todas as bactérias patogênicas para o homem. As etapas celulares e moleculares só muito recentemente começaram a ser esclarecidas. Estudos no Laboratório possibilitaram identificar três proteínas envolvidas na aderência do *M. leprae* à laminina presente na membrana basal das células de Schwann. O efeito da infecção pelo *M. leprae* nestas células ainda não foi demonstrado,

embora dados preliminares do Laboratório sugiram que a TNFα e outras citocinas estão envolvidas e podem ser os principais mediadores da lesão neural.

Desenvolvimento de novos métodos para imunização e para o diagnóstico de doenças provocadas por micobactérias – Esta linha de pesquisa tem como objetivo primordial contribuir para o programa de controle, avaliando a tecnologia disponível no momento, e buscando métodos mais eficazes para prevenção e diagnóstico, tanto da hanseníase como da tuberculose. Assim, padronizou-se um método de diagnóstico baseado no método de PCR para hanseníase, em colaboração com o Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (projetos *Diagnosis of Mycobacterium leprae infection in human patients through PCR amplification* - OMS, 1990; *Desenvolvimento de "kit" simples, rápido e sensível, utilizando a técnica de PCR: aplicação no diagnóstico e no estudo da prevalência da hanseníase e tuberculose* - Faperj, 1992) e para tuberculose, em colaboração com a UFRJ (projeto *Núcleo de Pesquisa em Controle da Tuberculose* - Pronex/CNPq, 1998). No momento várias sondas e protocolos estão sendo testados em amostras clínicas (projeto *Assessment of a PCR-based kit for leprosy* - WHO, 1993). Este método de PCR está sendo aplicado no diagnóstico de recidivas e das formas neurais puras da hanseníase, assim como no diagnóstico de infecção subclínica em contatos.



Mycobacterium leprae marcado com fluoresceína aderido a células de Schwann humanas

Além de métodos de biologia molecular, tem-se investido na utilização de alguns antígenos lipídicos e protéicos utilizando-se a técnica de ELISA para o diagnóstico de lepra e tuberculose (*Diagnóstico sorológico da tuberculose: otimização do teste de ELISA por uso de múltiplos antígenos e dissociação dos imunocomplexos do soro* - Faperj, 2000). Recentemente, em colaboração com as universidades de Leiden e de Amsterdam, vem-se tentando caracterizar as propriedades antigênicas de antígenos recombinantes disponíveis para que possam ser utilizados no futuro em testes *in vitro* ou *in vivo* no diagnóstico da tuberculose (projeto *Definition of novel M. tuberculosis antigens for vaccination against and early detection of tuberculosis* - Comunidade Européia, 1999). Projetos semelhantes em colaboracão com a London Tropical Medicine and Hygiene School (Londres) e outros centros internacionais estão em andamento, utilizando antígenos recombinantes do *M. leprae* (projeto *IMMYC steering committee initiative for the development of new peptide-based skin test reagents for leprosy* - OMS, 1996). Este projeto visa também ao desenvolvimento de um teste cutâneo para o diagnóstico precoce da hanseníase baseado em peptídeos específicos do *M. leprae*. Um novo projeto em colaboração com a Colorado State University (*Leprosy redux: exploiting the genome* - NIH, 2000) visa à busca sistemática de novos antígenos B e T em paralelo com a definição do proteoma do *M. leprae*.

Na linha de vacinas, as pesquisas do Laboratório iniciaram-se com estudos epidemiológicos em coortes de contatos de pacientes com a hanseníase, no sentido de confirmar dados de outros países que indicavam um significativo valor protetor da vacina BCG. Após vários anos de pesquisa utilizando diferentes protocolos epidemiológicos de análise, confirmou-se o valor do BCG na proteção da lepra, principalmente para as formas multibacilares. Durante este projeto, foi realizada a análise do perfil de citocinas em comunicantes de pacientes hansenianos submetidos a uma e a duas doses de BCG. Este estudo demonstrou que indivíduos vacinados com BCG passam a produzir níveis significativamente maiores de IFNγ tanto em resposta a antígenos cruzados como específicos do *M. leprae*. No momento, reativa-se em todo o mundo o interesse de se otimizar o BCG, através de manipulação genética, como vacina de escolha para tuberculose e, conseqüentemente, para hanseníase.

Pesquisa clínica em hanseníase – Esta linha fundamenta-se em vários projetos, a maioria deles como parte de trabalhos de tese de mestrado ou doutorado de médicos registrados em cursos de pós-graduação desta Instituição, assim como da UFRJ e da UFF.

Estudos de acompanhamento foram realizados utilizando esquemas terapêuticos de curta duração para tratamento poliquimioterápico de várias formas clínicas da hanseníase e forneceram bases técnicas

para a implantação do esquema de poliquimioterapia de doses fixas para pacientes multi e paucibacilares em nível do programa nacional. Ainda na área da terapêutica, buscaram-se novos esquemas de tratamento para os estados reacionais utilizando as drogas tradicionais e novas drogas disponíveis, como a pentoxifilina, atualmente incorporada como tratamento alternativo complementar no ENL.

Como membro do Comitê Técnico Assessor do Ministério da Saúde, o Laboratório tem participado na elaboração das normas oficias do programa em nível nacional e estadual (convênios FNS e Ministério da Saúde).

Recentemente tem-se contribuído no diagnóstico das formas neurais puras da hanseníase e no acompanhamento eletrofisiológico da neuropatia na doença de Hansen.

Laboratório de Biologia e Controle da Esquistossome

Estudo dos mecanismos de transmissão da esquistossomose mansônica em uma situação epidemiológica complexa envolvendo dois hospedeiros definitivos (homem e roedor): interação do Schistosoma mansoni com a fauna helmíntica natural do rato d'água, Nectomys squamipes e variação genômica do parasito – Neste projeto, é desenvolvido um programa de investigação e intervenção, no qual temos os seguintes objetivos: 1) conhecer a situação da endemia na população humana e tratar periodicamente todos os indivíduos infectados, com o duplo propósito de eliminar as fontes de infecção humana e estudar as condições em que ocorrem as reinfecções; 2) conhecer a prevalência da infecção nos animais silvestres da área, sobretudo *N. squamipes*, as variações dessa prevalência no tempo e em função da dinâmica populacional dessa espécie na região, bem como suas relações com a infecção dos moluscos transmissores (*Biomphalaria glabrata*) e com a doença humana; 3) investigar a estrutura e a dinâmica de populações de *Nectomys*, suas espécies e variedades, sua biologia e comportamento dentro do ecossistema, relacionando tais dados com o mecanismo de transmissão da esquistossomose; 4) estudar, no laboratório, a suscetibilidade dos *Nectomys* (espécies e variedades) à infecção pelas diversas cepas brasileiras de *S. mansoni*, a evolução e duração da infecção e a capacidade de transmiti-la; 5) este estudo permite inclusive a avaliação de *N. squamipes* e *N. rattus* (outro habitante de áreas endêmicas) como animais de laboratório para estudos de patologia experimental.

O rato d'água, *Nectomys squamipes*, reservatório de *Schistosoma mansoni* no Brasil

Os dados acumulados por esses estudos, até o momento, apontam para a importância dos roedores na epidemiologia da esquistossomose e sua capacidade de manter o ciclo parasitário, mesmo na ausência do homem, podendo estender eventualmente a parasitose a novas áreas onde se encontrem as diferentes espécies de *Biomphalaria* e populações expostas ao risco.

Propomos, também, analisar por métodos moleculares os três componentes dessa variabilidade a fim de encontrar correlações que possam dar subsídios a uma política sanitária mais abrangente para essa doença. As correlações encontradas poderão explicar os diferentes graus de adaptações naturais parasita-hospedeiros (intermediário e definitivo) em várias regiões geográficas.

Estudo cariossistemático e aspectos ecológicos de roedores silvestres de interesse epidemiológico como reservatórios de parasitas que afetam o homem – Objetivos: 1) identificar em nível específico roedores reservatórios potenciais do *Trypanosoma cruzi, Leishmania* spp. e de riquetsias causadoras da febre maculosa, usando-se técnicas citogenéticas e morfológicas; 2) estudar a ecologia de populações de roedores silvestres e suas interações com a epidemiologia de parasitas que afetam o homem; 3) estabelecer métodos de manejo e criação em laboratório de roedores silvestres reservatórios potenciais, visando sua utilização como modelo experimental alternativo para o estudo da esquistossomose, doença de Chagas e leishmaniose.

Esquistossomose mansoni no município de Capitão Andrade, MG, e em ambulatório hospitalar da UFRJ: estudo de pacientes com não resposta ao tratamento específico, associação com hepatites virais e perda de suscetibilidade à infecção de amostras por Biomphalaria glabrata – Objetivos: 1) caracterizar, através de biologia molecular, os fatores envolvidos na perda parcial de suscetibilidade à infecção por *S. mansoni* de isolados de *B. glabrata*; 2) determinar o comportamento experimental de isolados de *S. mansoni* de pacientes que não responderam ao tratamento com as drogas específicas, atendidos no município de Capitão Andrade e em ambulatório hospitalar (HUCFF-UFRJ); 3) avaliar a evolução clínica de pacientes portadores da infecção por *S. mansoni* associados à infecção pelos vírus das hepatites A, B e C, área de estudo e em ambulatório; 4) estabelecer os principais fatores epidemiológicos que podem interferir na evolução para as formas graves da esquistossomose em pacientes da área endêmica e que recebem atendimento ambulatorial.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

O Departamento, nos seus vinte anos de existência formal, teve um grande desenvolvimento; partindo de um pequeno laboratório, com dois pesquisadores e quatro técnicos, é hoje o terceiro maior Departamento do Instituto com mais de trinta pesquisadores e tecnologistas, doze linhas de pesquisa e vários projetos, integrando aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de complexidade crescente.

Suas linhas de pesquisa, particularmente relacionadas com doença de Chagas, esquitossomose, hanseníase, leishmanioses, helmintiases e protozooses intestinais e diversas outras doenças infecciosas e parasitárias, têm-se ampliado no sentido da integração de aspectos epidemiológicos de campo, com estudos descritivos, analíticos e experimentais, com o desenvolvimento de bancada, utilizando modernas técnicas de análise bioquímicas, genéticas, imunológicas e moleculares aplicadas a parasitos, reservatórios e vetores, em colaboração com diversos departamentos do Instituto, de outras unidades da Fiocruz e de outras instituições nacionais e internacionais.

O Curso de de Pós-graduação em Medicina Tropical (mestrado e doutorado), com numerosos e variados projetos individuais ou dentro das linhas de pesquisa do Departamento, vem ampliando de forma marcante o campo de atuação do grupo, não somente de forma quantitativa, mas principalmente nos seus aspectos qualitativos e de integração, recebendo alunos de vários estados da federação e de países estrangeiros, entre os quais Colômbia, Venezuela, Equador, México, Panamá, Paraguai, Peru, enfim de todo a América Latina. Qualitativamente o curso de pós-graduação é classificado no mais alto grau do sistema Capes/CNPq. Por outro lado a presença de alunos de aperfeiçoamento, especialização, iniciação e vocação científica, amplia e renova o Departamento.

Para os próximos anos, considerando o crescimento do número e da titulação dos pesquisadores, planeja-se ampliar os grupos de pesquisa com o desdobramento dos laboratórios de Doenças Parasitárias e de Hanseníase, e conseqüentemente a abertura de novas linhas de pesquisa.

Tendo em vista as perspectivas de ocupação e vigilância da Amazônia e o grande potencial daquela área para a medicina tropical, o Departamento está instalando uma estação de pesquisa em Barcelos, no médio Rio Negro, Amazonas, visando ao desenvolvimento de novas linhas de pesquisa, em malária, leishmaniose, hanseníase e saúde indígena. Várias teses de mestrado e doutorado estão orientadas para aquela área. A ampliação do curso de pós-graduação, com a recepção de alunos recém-graduados, para obtenção gradativa dos títulos de especialização, mestrado e doutorado, para os mais vocacionados, é uma meta a ser implantada a partir do próximo ano.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL
CHEFE: *Euzenir Nunes Sarno*

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA E CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE
CHEFE: *Luis Rey*

Arnaldo Maldonado Jr	Pesquisador Adjunto
Luis Rey	Pesquisador Titular
Maria José Conceição	Pesquisador Adjunto
Paulo Sergio D'Andrea	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS
CHEFE: *José Rodrigues Coura*

Angela Cristina Verissimo Junqueira	Pesquisador Adjunto
Carlos José de Carvalho Moreira	Assistente de Pesquisa
Fernando Dias de Ávila Pires	Pesquisador Titular
José Borges Pereira	Pesquisador Titular
José Rodrigues Coura	Pesquisador Titular
Marcio Neves Boia	Pesquisador Titular
Octavio Fernandes da Silva	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE HANSENÍASE
CHEFE: *Euzenir Nunes Sarno*

Adalberto Rezende Santos	Pesquisador Adjunto
Alice de Miranda Machado	Pesquisador Adjunto
Ana Maria Sales	Médico
Dazuna de Almeida Esquenazi	Assistente de Pesquisa
Daniel Chaves Mesquita de Souza	Tecnologista
Edson Cláudio A. de Albuquerque	Tecnologista
Elza Carmen Cerqueira de Almeida	Tecnologista
Euzenir Nunes Sarno	Pesquisador Titular
Elizabeth Pereira Sampaio	Pesquisador Titular
Geraldo Moura Batista Pereira	Pesquisador Titular
Jorge Luiz Figueiredo Salgado	Assistente de Pesquisa
José Augusto da Costa Nery	Pesquisador Adjunto
Leila Maria Machado Vieira	Pesquisador Visitante/Faperj
Maria Cristina Vidal Pessolani	Pesquisador Titular
Maria Eugenia Noviski Gallo	Médico
Maria Helena Saad	Pesquisador Associado
Marisa Signorelli	Tecnologista
Nádia Cristina Duppre	Tecnologista
Patrícia Elizabeth Pgnataro	Médico
Sérgio Luiz Gomes Antunes	Pesquisador Titular
Rita Maria de O. Pereira	Tecnologista
Vania da Costa Valentim	Tecnologista

DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA

HISTÓRICO

Os primeiros estudos na área de Micologia, em Manguinhos, iniciaram-se em 1910, devendo-se a Henrique Figueiredo de Vasconcellos, que na época pertencia à Seção de Bacteriologia, contribuições importantes como a descoberta e descrição do fungo dermatófito *Trichophyton griseum* e sua ocorrência em infecções espontâneas em cobaios. A partir daí, vários trabalhos e descobertas aconteceram, e o Instituto Oswaldo Cruz (IOC) percebeu a necessidade de se sistematizar os estudos em micologia, organizando uma unidade de trabalho especialmente a eles destinada.

Em 1919, Carlos Chagas, diretor do Instituto na época, deu a Olympio da Fonseca Filho a tarefa de se especializar e montar um Laboratório de Micologia no Instituto. Em 1920, Olympio iniciou sua especialização nos Estados Unidos, na Clínica do Dr. Gilchrist e no Hospital da Universidade John Hopkins. Nessas duas instituições, ele começou, a partir de amostras isoladas nesses locais de trabalho, uma coleção de culturas de fungos que logo depois foi ampliada no laboratório do Dr. Thom e de Miss Church, etapa final da formação nos Estados Unidos. A segunda etapa da especialização se deu na Europa, no Hospital São Luis, no Laboratório Municipal da Cidade de Paris, sob a direção de Raymond Sabouraud, o fundador da moderna micologia médica. A coleção de culturas iniciada nos Estados Unidos e que, segundo o próprio Olympio, "veio a servir de *cartão de visita*, abrindo-nos as portas de todos os centros de estudos micológicos, onde sempre há quem esteja interessado em obter novas amostras de cogumelos", triplicou em número de amostras. No final de 1922, munido dessa importante coleção e de todos os conhecimentos adquiridos no exterior, voltou ao Rio de Janeiro e Carlos Chagas encarregou-o de organizar e chefiar a nova unidade e também a sua coleção de culturas de fungos com a designação extra oficial de Laboratório de Micologia, tendo como colaborador Antonio Eugênio de Arêa-Leão.

Durante quinze anos, de 1922 a 1937, Olympio da Fonseca Filho chefiou o Laboratório, sendo afastado somente por causa da ditadura Vargas. Nessa mesma época, com as mudanças administrativas que ocorreram devido ao "Estado Novo", houve uma padronização e o Laboratório passou a ser chamado de Seção de Micologia, chefiada por Arêa-Leão.

A partir da década de 40, a Seção passou a contar com colaboradores de reconhecida competência nacional como Adolpho da Rocha Furtado, Amadeu Cury, Masao Goto e Moacyr Vaz de Andrade, que além de se alternarem na chefia, trouxeram novas linhas de pesquisa como métodos imunológicos de diagnóstico das micoses e citologia, bioquímica e fisiologia dos seus agentes causais. No final da década de 50, a Seção mantinha em estoque vários antígenos micóticos concentrados como paracoccidioidina, coccidioidina, histoplasmina, esporotriquina e tricofitina que podiam ser empregados para diagnósticos das respectivas doenças. Estes antígenos eram muito procurados, cabendo ao setor o fornecimento das ampolas para a comunidade científica e para órgãos ligados à saúde pública.

Em 1953, Arêa Leão publicou, em língua inglesa, o primeiro catálogo de cepas chamado *List of Cultures of Fungi* listando aquelas que estavam depositadas na coleção de culturas, então designada Micoteca, sob a curadoria de Nisia Q. Duprat. Na época, esse catálogo foi enviado a todos os grandes centros micológicos e foi fornecido aos visitantes credenciados.

Em 1956, Adolfo da Rocha Furtado assumiu e permaneceu na chefia da Seção de Micologia até 1959, reassumindo-a em 1964, quando incentivou a formação de diversos especialistas entre eles Maria Carlota Pedroso, Moacyr Vaz de Andrade e Pedrina Cunha de Oliveira.

A Micoteca também contribuiu para a formação de outras coleções como a da Universidade Imperial de Senday, no Japão e a do professor Carlos Negroni, no Instituto Bacteriológico do Departamento de Higiene de Buenos Aires.

Uma outra grande contribuição da Micoteca foi para a Coleção do Bureau of Chemistry of the USDA, tendo fornecido mais de cem culturas do gênero *Penicillium* e alguns *Aspergillus*. Essas culturas foram estudadas pelo especialista Charles

Thom e citadas no seu livro *The Penicillium*, onde reconhece o valor dessa contribuição, afirmando: *Exceedingly valuable ..... contributed largely to our collection and our information*. Dentre as amostras enviadas a Thom, duas eram espécies novas que foram denominadas *Penicillium brasiliensis* e *Aspergillus fonsecaeus*.

Ao final da década de 60, a Seção sofreu um esvaziamento por motivos políticos no país, permanecendo assim até a década de 70 quando Pedrina assumiu a chefia. São várias e importantes as contribuições de Pedrina para o conhecimento de novos mutantes de *Aspergillus*, alterações da estrutura cromossomial por radiações ultravioleta e da heterocariose em *A. nidulans*.

No final da década de 70, com a mudança do sistema organizacional do IOC, foi extinta a designação de Seção, criando-se o atual Departamento.

Na década de 80, Pedrina resolve reorganizar e modernizar a Coleção de Cultura de Fungos do Departamento, criando novas linhas de pesquisa e incentivando a capacitação técnico-científica dos recursos humanos. Enviou o pesquisador Antônio Manoel Mendes da Silva para um estágio de um ano no Laboratório do Dr. Drouhet, no Instituto Pasteur em Paris. Com a criação do projeto *Reconstituição, manutenção e ampliação da Coleção de Culturas Fúngicas do Departamento de Micologia*, sob os auspícios da Finep, foi possível a contratação das pesquisadoras Cintia de Moraes Borba e Gisela Lara da Costa.

Na década de 80, Pedrina assume a curadoria da Coleção. Em 1992 a Coleção passa a ser designada Laboratório, sob a curadoria de Maria Inez de Moura Sarquis.

O Laboratório funciona como um depositário e fonte de abastecimento de cepas de interesse industrial, cepas patogênicas para o homem e animais, cepas fitopatogênicas e entomógenas, oferecendo subsídio para inúmeros trabalhos de pesquisas, teses de mestrado e doutorado.

A Coleção serviu como base para a reconstituição da coleção do Instituto Pasteur de Paris que, durante a primeira Guerra Mundial, desaparecera por falta de quem transplantasse as amostras.

Na década de 90, ainda incentivando o crescimento e fortalecimento do Departamento, Pedrina buscou junto à OMS subsídios para o projeto *Isolamento e caracterização de cepas fúngicas passíveis de uso em controle biológico de vetores*, que permitiu a contratação da pesquisadora Áurea Maria Lage de Moraes.

Fusarium oxysporum var. *oxysporum*

A Coleção presta serviços mediante solicitação da comunidade científica e está cadastrada na *World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms*. Atualmente possui 1.633 cepas que estão distribuídas em 201 gêneros e 469 espécies, mantidas em diferentes métodos de preservação, desde óleo mineral até liofilização.

Em 1995, aposentam-se os pesquisadores Antonio Manoel e Pedrina, deixando como sua sucessora Katia Ferreira Rodrigues que remodernizou os laboratórios; apoiou os pesquisadores para o ingresso em cursos de doutorado; implantou técnicas de cromatografia líquida de alta resolução; estabeleceu cooperações científicas com outros departamentos e unidades da Fiocruz e implantou novas linhas de pesquisa como o estudo de fungos endofíticos e a elucidação química estrutural de metabólitos secundários fúngicos produtores de substâncias antimicrobianas, em colaboração com pesquisadores da Universidade de Zurique, na Suíça.

Atualmente, o Departamento desenvolve pesquisas em diferentes áreas de conhecimento em micologia, tendo como atividades básicas: 1) contribuir para um melhor conhecimento da biodiversidade fúngica e utilização do seu potencial através de isolamento e caracterização estrutural de metabólitos secundários fúngicos bioativos para o desenvolvimento e aprimoramento de métodos de cultivo e preservação de fungos; 2) estudar a biomorfologia e a patogenicidade de *Paracoccidioides brasiliensis*; 3) estudar cepas entomotoxigênicas e/ou entomopatogênicas passíveis de uso em controle biológico de vetores de doenças; 4) estudar a micobiota e a colonização de fungos em triatomíneos vetores da doença de Chagas.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Sistemática e biologia de fungos filamentosos – As pesquisas em sistemática são desenvolvidas com o objetivo principal de solucionar problemas nas áreas da saúde e do meio ambiente. O estudo taxonômico é realizado com diversos grupos de microfungos em culturas puras, incluindo os Ascomycetes e fungos mitospóricos. A identificação é feita por métodos clássicos, como morfologia e fisiologia, buscando-se novos caracteres para melhor definição das espécies.

Os estudos decorrentes desta linha de pesquisa vêm contribuindo para o melhor conhecimento de espécies e/ou grupos de fungos, através de levantamentos da micobiota em diferentes substratos e habitats, analisando a diversidade encontrada em diferentes grupos taxonômicos e os modernos conceitos utilizados na taxonomia e classificação, provenientes de recentes avanços advindos de técnicas moleculares e bioquímicas.

Ademais, são prestados serviços de identificação de fungos contaminantes, encontrados em ambientes fechados como bibliotecas, biotérios, museus e institutos de pesquisa em geral; as análises dos resultados são realizadas com absoluto rigor técnico, de forma neutra e sigilosa, utilizando-se técnicas modernas, adequadas para atingir os objetivos propostos.

Projetos envolvidos: 1) isolamento e identificação de *Paracoccidioides brasiliensis*; 2) coleta, isolamento e identificação de fungos entomopatogênicos; 3) coleta, isolamento e identificação de fungos de solo; 4) coleta, isolamento e identificação de fungos endofíticos; 5) coleta, isolamento e identificação de fungos contaminantes de ambientes fechados.

Biomorfologia, patogenicidade e caracterização molecular de Paracoccidioidomicosis brasiliensis – Vários estudos têm sido desenvolvidos dentro desta linha de pesquisa. Uma importante contribuição foi o isolamento de protoplastos de *P. brasiliensis*, realizado pela primeira vez no Brasil, em 1993. A técnica foi realizada com sucesso, resultando em estabilidade morfológica temporária das organelas celulares, abrindo novos caminhos para o estudo da morfogênese da parede celular, do dimorfismo e de sítios de ação de novas drogas antifúngicas.

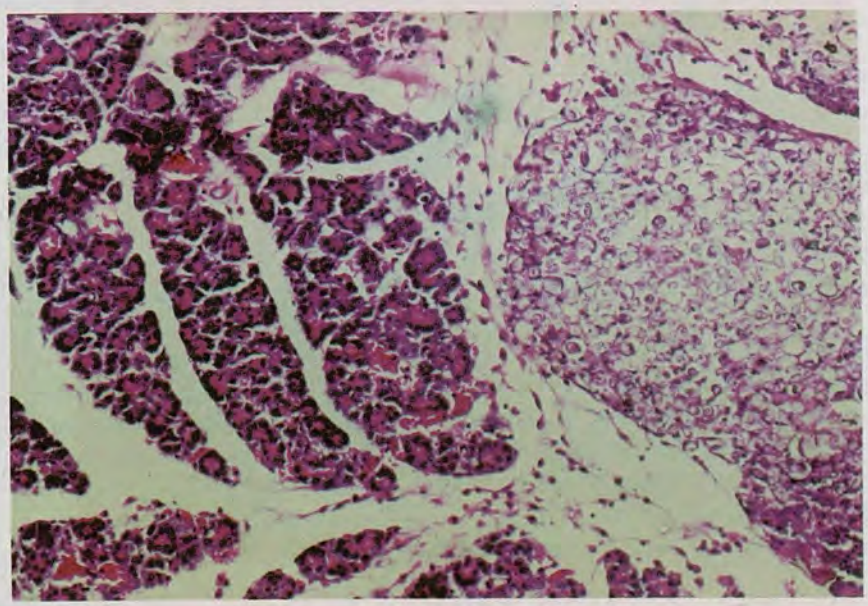
Estudos ultra-estruturais de cepas de *P. brasiliensis* foram realizados em colaboração com o Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular, elucidando vários aspectos importantes da morfologia e fisiologia desse fungo.

Além disso, têm sido realizadas investigações sobre a viabilidade, a capacidade dimórfica e a patogenicidade de cepas desse fungo, após longo período de preservação *in vitro*, assim como os problemas advindos desse processo. Essas cepas estão sendo estudadas, do ponto de vista molecular e do ponto de vista bioquímico, em colaboração com outros órgãos de pesquisa.

Em fase de implantação, está um setor de técnicas histológicas convencionais para dar suporte aos estudos de infecções fúngicas experimentais, principalmente a paracoccidioidomicose.

Projetos envolvidos: 1) estudo da patogenicidade de cepas de *P. brasiliensis* e avaliação do efeito do soro fetal bovino em sua morfogênese; 2) genotipagem por RAPD de cepas de *P. brasiliensis;* 3) análise bioquímica de cepas avirulentas de *P. brasiliensis*.

Metabólitos secundários fúngicos: caracterização, isolamento, elucidação estrutural e potencial biológico – No seu ambiente natural, o fungo está exposto a um grande número de organismos competindo pelos mesmos substratos, forçando-o a



Nódulo granulomatoso no peritônio comprometendo o parênquima pancreático causado por *Paracoccidioides brasiliensis*

desenvolver estratégias para garantir sua sobrevivência, como por exemplo a produção de metabólitos secundários. Um exemplo notável é a produção de antibióticos por fungos que habitam principalmente o solo.

Os fungos e os Actinomycetes que ocorrem no solo têm sido extensivamente investigados, do ponto de vista bioquímico, tornando-se cada vez mais difícil a descoberta de novos produtos naturais de origem microbiana. No entanto, esse problema pode ser sanado à medida que fungos que ocorrem em substratos ou habitats relativamente pouco explorados passam a ser incorporados a esses programas.

Nesse cenário, aparecem os fungos endofíticos que colonizam o interior de tecidos vegetais sem causar sintomas aparentes de doença. A maioria dos estudos relacionados a endofíticos tem sido efetuada em regiões temperadas, onde certamente encontram-se ecossistemas com extensivas alterações causadas pelo homem. Embora recentemente tenha havido um maior interesse no estudo de endofíticos de regiões tropicais, muito pouco ainda se sabe sobre a diversidade e a função biológica desses fungos nos trópicos.

Os endofíticos passaram a despertar um grande interesse devido à diversidade química e biológica de seus metabólitos produzidos *in vitro*, representando uma fonte em potencial de novos compostos, são utilizados, principalmente, para o desenvolvimento de novas drogas úteis no combate à infecções microbianas.

Alternaria alternata

Vários estudos envolvendo a busca de novas substâncias de interesse biotecnológico estão em desenvolvimento, com a finalidade de investigar as propriedades de substâncias naturais isoladas e purificadas, provenientes principalmente de fungos endofíticos encontrados em diversas plantas medicinais, como *Spondias mombin* e *Aspidosperma melanocalyx*. Os dados experimentais provenientes de análises cromatográficas, espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear estão sendo obtidos por uma equipe multidicisplinar, incluindo micologistas, químicos orgânicos e farmacólogos, para a análise de substâncias específicas, tendo os estudos laboratoriais revelado a presença de novas substâncias de interesse biomédico.

Projetos envolvidos: 1) desenvolvimento de processos fermentativos para produção de metabólitos secundários fúngicos; 2) isolamento e elucidação química estrutural de compostos bioativos de fungos; 3) detecção de atividades antimicrobianas produzidas por metabólitos secundários fúngicos.

Isolamento e caracterização de fungos com potencial para uso em controle biológico – Pouco se sabe sobre as inter-relações entre fungos e insetos vetores de doenças humanas e animais. Assim, os objetivos gerais desta linha de pesquisa e de todos os projetos envolvidos são: a) obter maiores conhecimentos sobre fungos e insetos vetores de doenças tropicais e suas possíveis inter-relações; b) buscar novas cepas com potencial entomopatogênico e/ou entomotoxigênico.

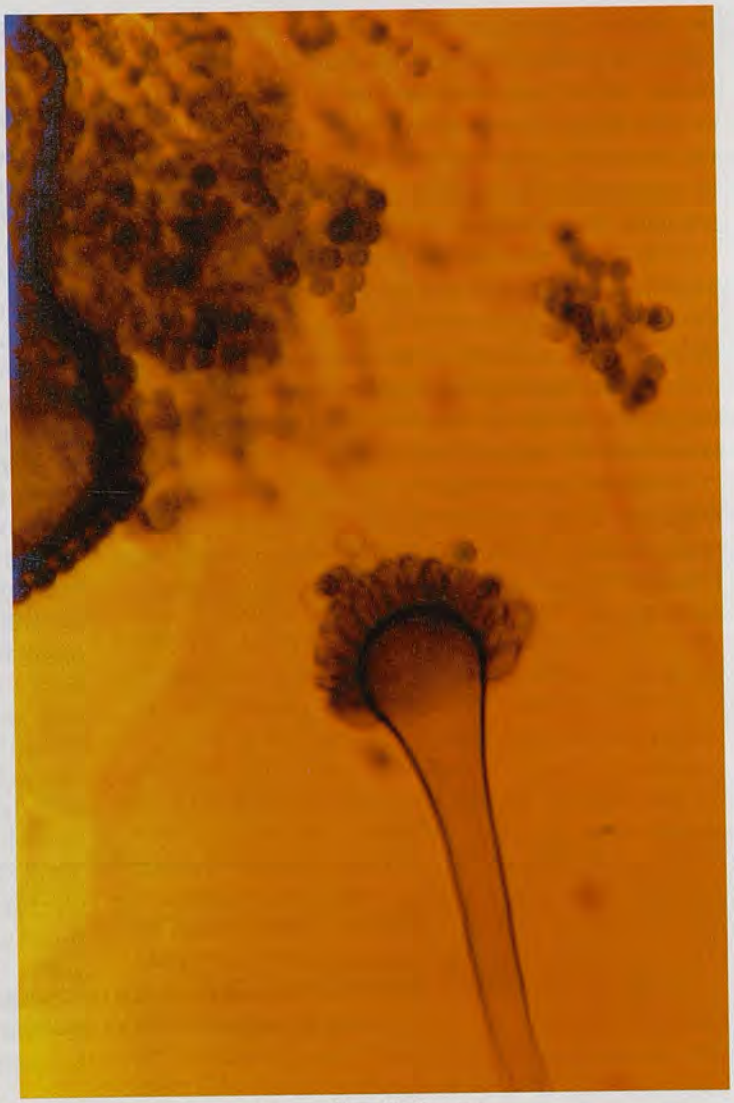
Projetos envolvidos: 1) levantamento da micobiota do trato digestivo de triatomíneos; 2) isolamento e caracterização de fungos provenientes de mosquitos vetores de doenças tropicais; 3) estudo da variabilidade fenotípica e genotípica de espécies de *Aspergillus* isoladas de triatomíneos e mosquitos; 4) isolamento e identificação morfológica e molecular de fungos entomógenos de *Boophilus microplus* do município de Seropédica, RJ; 5) avaliação da eficácia *in vitro* dos fungos entomógenos em mosquitos dos gêneros *Aedes*, *Culex*, *Anopholes* e em carrapato do gênero *Boophilus*, vetores de doenças no homem e no animal; 6) avaliação e caracterização de micotoxinas de fungos isolados de mosquitos e preservados na Coleção.

No primeiro projeto foram analisadas oito espécies de triatomíneos e

todas as suas fases de desenvolvimento, como também insetos usados em xenodiagnóstico, na tentativa de se detectar variações na população fúngica na presença do *Trypanosoma cruzi*. A partir das amostragens de pool de trato digestivo dos triatomíneos, foram isoladas 457 cepas de fungos, divididas em 23 gêneros e 73 espécies, sendo vinte espécies new records para insetos e três new records para o Brasil.

Algumas dessas cepas isoladas dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram testadas em bioensaios contra *P. megistus e Triatoma infestans* e mostraram uma mortalidade boa para essas espécies de triatomíneos. Na análise feita no trato digestivo dos insetos usados em xenodiagnóstico, foram isoladas 214 cepas divididas em doze gêneros e 42 espécies, sendo dez new records para insetos e duas new records para o Brasil; foi também observada uma grande redução na população fúngica no material positivo para o *T. cruzi*.

A partir do levantamento de mosquitos de cinco regiões do Brasil, foram isoladas 1.180 cepas de fungos divididas em onze gêneros e 70 espécies. Foram isoladas 198 cepas de *Penicillium* identificadas em treze espécies. Dentre esses isolados, as espécies que tiveram maior incidência foram *Penicillium corylophilum*, *P. janthinellum*, *P. fellutanum* e *P. waksmani*. Isolados dos gêneros *Aspergillus, Penicillium, Paecilomyces, Fusarium, Acremonium* e *Trichoderma,* foram testados em bioensaios com mosquitos das espécies *Ae. fluviatilis, An . aquasalis, Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*; muitas delas apresentaram boas taxas de mortalidade.



Aspergillus fumigatus

O terceiro projeto reúne todas as cepas de *Aspergillus* isoladas das oito espécies de triatomíneos e dos mosquitos dos gêneros *Culex* e *Aedes* e tem como objetivo combinar os resultados morfológicos, culturais e bioquímicos obtidos para o estudo da variabilidade fenotípica e genotípica dessas espécies isoladas de insetos, e com isso estabelecer uma metodologia bioquímica útil para a caracterização de espécies desse gênero, tentando assim solucionar alguns problemas taxonômicos existentes no gênero, principalmente na seção Circumdati que abriga os representantes entomopatogênicos do gênero, e também identificar um marcador molecular que discrimine cepas toxigênicas.

A partir do carrapato *B. microplus* inteiro e do trato digestivo, foram isolados até o presente momento 153 cepas fúngicas e identificadas nos seguintes gêneros: *Aspergillus, Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Paecilomyces, Penicillium, Metarhizium,* entre outros de interesse em controle biológico. As cepas consideradas pela literatura como entomógenas serão caracterizadas molecularmente e testadas *in vitro*, para avaliar a patogenicidade e a toxigenicidade.

Cerca de 50 cepas de *Penicillium* spp., isoladas de mosquitos vetores, estão sendo avaliadas e caracterizadas quanto à presença ou não de micotoxinas, através de testes cromatográficos, sendo também testadas em bioensaios com mosquitos das espécies *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, para avaliar o potencial entomopatogênico e toxigênico dessas cepas.

Conservação ex situ de fungos – As coleções de culturas de fungos representam importante fonte

de recursos genéticos para pesquisa e desenvolvimento de produtos, sendo reconhecidas pela comunidade científica como um importante depositário *ex situ* da biodiversidade fúngica. Assim sendo, se faz necessária uma boa manutenção e gerenciamento, assegurando disponibilidade global de seus recursos para fins científicos e comerciais.

Diversos métodos de preservação garantem a viabilidade, estabilidade e pureza de diferentes taxa durante um longo período de tempo. As solicitações das culturas pela comunidade são feitas por meio de um catálogo de cepas e por via on line; é fornecido um serviço de consultoria e referência de taxonomia de fungos filamentosos.

Projetos envolvidos: 1) estudos de diferentes métodos de preservação em diferentes grupos taxonômicos; 2) estudo da longevidade e alterações biomorfológias de fungos mitospóricos preservados na Coleção.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

Concomitante ao aprofundamento dos estudos em desenvolvimento, tem-se como objetivos a implantação de técnicas moleculares e bioquímicas para a caracterização de cepas fúngicas; credenciamento do Laboratório como serviço de referência para taxonomia de fungos filamentosos; estudos enzimáticos e moleculares que auxiliam na identificação dos diversos grupos taxonômicos armazenados na Coleção; caracterização da produção de metabólitos secundários em *Aspergillus* spp. e *Penicillum* spp. preservados sob óleo mineral; elaboração e impressão da nova edição do *Catálogo de Cepas Fúngicas da Coleção* e isolamento de genes de interesse biotecnológico. Continuaremos buscando novas cepas de regiões tropicais com potencial patogênico e toxigênico, como também novos tipos de formulações para serem aplicadas no controle biológico de vetores de doenças humanas e animais.

DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
CHEFE: *Katia Ferreira Rodrigues Heerklotz*

LABORATÓRIO DA COLEÇÃO DE CULTURAS DE FUNGOS
CHEFE: *Maria Inez de Moura Sarquis*

Aurea Maria Lage de Moraes	Pesquisador Adjunto
Cintia de Moraes Borba	Pesquisador Adjunto
Gisela Lara da Costa	Tecnologista
Katia Ferreira Rodrigues Heerklotz	Pesquisador Associado
Maria Inez de Moura Sarquis	Pesquisador Adjunto

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

HISTÓRICO

No início do século, as deficiências no ensino da medicina de laboratório eram importantes porque as escolas de medicina do Rio de Janeiro e da Bahia eram as únicas fontes de cientistas médicos treinados do Brasil. O uso do microscópio era uma raridade no ensino da histologia e da patologia e o tradicionalismo da Escola de Medicina do Rio de Janeiro, com enfoque essencialmente clínico, barrava o progresso da patologia ou histologia patológica. Esta, no Rio de Janeiro, começou a desenvolver-se fora da Escola de Medicina, em dois núcleos: no Hospital Nacional de Alienados e no Instituto Oswaldo Cruz, originado do Laboratório Soroterápico Federal, criado pelo Barão de Pedro Affonso. Em 12 de dezembro de 1907, por decreto do presidente Afonso Pena, aquele laboratório vacinogênico foi transformado no Instituto de Patologia Experimental, sendo logo após denominado Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Nele foi realmente criada e desenvolvida a primeira escola brasileira de anatomia e histologia patológicas. Seus primeiros quinze anos de história foram difíceis e acidentados.

O iniciador da Escola de Patologia de Manguinhos foi Henrique da Rocha Lima formado, em 1901, pela Escola de Medicina do Rio de Janeiro. Em 1902 partiu para a Alemanha para especializar-se em clínica médica. Lá chamou logo a atenção dos professores pelo seu talento e competência. De volta ao Brasil, em vez de seguir a carreira clínica, enveredou para a insegura carreira científica, graças a um convite de Oswaldo Cruz para trabalhar no Instituto de Manguinhos. De 1903 a 1907, foi um dedicado e talentoso pesquisador. Já como assistente de Oswaldo Cruz, Rocha Lima se licenciou e retornou novamente à Alemanha para concluir seus estudos. Aproveitando sua estada naquele país sugeriu que o Instituto Experimental de Manguinhos participasse do Congresso Internacional de Higiene. Como resultado, o Instituto ganhou a Medalha de Ouro e obteve o reconhecimento científico internacional como um centro de excelência, onde se formava a nova geração de médicos, pesquisadores científicos, higienistas e sanitaristas brasileiros. O intercâmbio com a Alemanha que, junto com a França, era o país líder no cenário da pesquisa internacional na época (fase pré-estadunidense) motivou Oswaldo Cruz, coincidindo com o ingresso de Carlos Chagas no Instituto de Manguinhos, a convidar, para ali trabalharem grandes nomes da ciência européia.

Rocha Lima tornou-se um patologista de renome internacional, ficando conhecido sobretudo por seus trabalhos sobre as lesões hepáticas na febre amarela. Além de esclarecer a etiologia do tifo, contribuiu para a epidemiologia e a profilaxia da doença, trabalhando na obtenção de vacinas e soro.

Com a retirada de Rocha Lima para a Alemanha, em 1910, Oswaldo Cruz teve a feliz iniciativa de atrair para Manguinhos Gaspar Vianna, um jovem cientista em potencial, que vagava incerto de laboratório em laboratório, em busca de um ambiente favorável ao desenvolvimento de suas qualidades de investigador, até então apenas esboçadas. Em Manguinhos encontrou o que era necessário para revelar sua personalidade predestinada à pesquisa. Em curto tempo enriqueceu o patrimônio científico de Manguinhos com uma série de trabalhos de real valor. No Instituto trabalhou de 1910 a 1914, tendo sob a sua orientação Cesar Guerreiro e Oscar d'Utra e Silva. O ritmo de trabalho de G. Vianna era intenso. Pela manhã realizava autópsias na Santa Casa e à tarde, com freqüentes prolongamentos pela noite e alta madrugada, estudava, em seu laboratório em Manguinhos, as peças que de perto o interessavam. Tornou-se, em pouco tempo, um grande amigo de Carlos Chagas, que o convidou para proceder à caracterização histopatológica da nova entidade, recém-descoberta, a doença de Chagas.

Gaspar Vianna, além de identificar ninhos de *Trypanosoma cruzi* intracelulares, observou a sua multiplicação intracelular por divisões binárias sucessivas sob a forma de leishmanias, a transformação dessas em tripanossomos ainda no interior das células e seu egresso destas. Esclareceu também que a sede dessas "formas intracelulares de multiplicação se encontra no miocárdio, nos músculos estriados, no sistema nervoso, além de outros tecidos", o que constituiu uma das maiores conquistas da protozoologia aplicada.

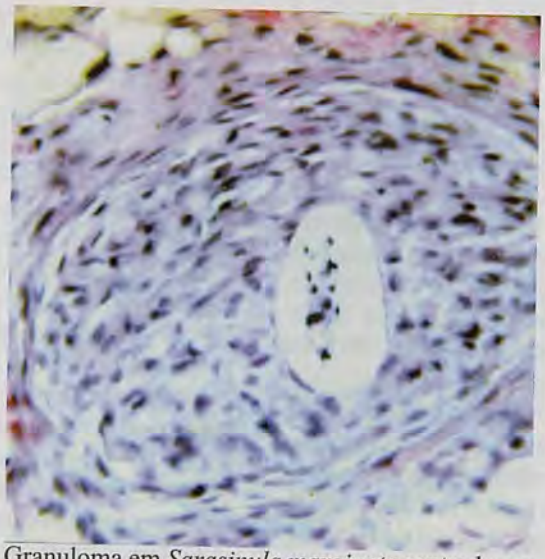
Com a experiência em tripanossomos, passa, em 1911, a caracterizar o tipo de leishmania causador da temível úlcera de Bauru que ceifava impiedosamente os operários que trabalhavam na abertura da via férrea ligando a cidade de Bauru com o vizinho estado de Mato Grosso. Foi ainda G. Vianna quem criou, em 1911, a espécie *Leishmania brasiliensis* para o agente da nossa úlcera de Bauru a fim de distingui-la da *L. tropica,* causadora do botão do oriente com o qual aquela era identificada até então. Não se limitando ao estudo do agente etiológico, baseado na aplicação vantajosa do antimônio em certas tripanossomoses, passou a utilizar, com muita prudência, o velhíssimo tártaro emético (=tártaro duplo de potássio e antimônio) no tratamento da leishmania tegumentar. Obteve surpreendente êxito, conseguindo a cicatrização rápida e definitiva das lesões. Em parceria com Henrique Aragão aplicou, também com sucesso, o sal de antimônio no tratamento de granuloma venéreo. Cultivou em agar-Sabouraud maltosado o referido agente, mostrando sua patogenicidade para diversos animais de laboratório. É importante lembrar que Giemsa trabalhou no Instituto a convite de Carlos Chagas, daí o domínio que Rocha Lima e G. Vianna tinham da coloração por ele descrita. G. Vianna publicou, de 1908 a 1914, 23 trabalhos, todos em revistas nacionais.

A morte de G. Vianna, a 15 de junho de 1914, com apenas 28 anos de idade, abalou o IOC que, pela primeira vez, perdia um dos seus pesquisadores, ficando privado do orientador dos trabalhos de anatomia patológica, que ficaram entregues a um grupo de jovens como ele, dentre os quais se destacavam Magarinos Torres, Cesar Guerreiro, Oswino Penna, Carlos Burle de Figueiredo e Oscar d'Utra e Silva.

São clássicos os trabalhos de Magarino Torres sobre a patologia chagásica. Na época a miocardite crônica era interpretada como evolução progressiva e direta de uma miocardite aguda remota. Em 1941, M. Torres volta a estabelecer um novo conceito a respeito da patogenia da doença de Chagas. Em 1947, Muniz e Penna de Azevedo realizam o primeiro trabalho com base experimental visando testar o conceito de *alergia* introduzido por M. Torres na patogenia da doença de Chagas. M. Torres trouxe contribuições relevantes e originais em várias outras doenças, incluindo as cromoblastomicoses. Realizou estudos fundamentais, assim como o fez Rocha Lima, sobre a anatomia patológica da febre amarela, descrevendo a degeneração oxicromática do núcleo das células hepáticas (lesão de Magarinos Torres), com a presença de inclusões nucleares características da fase mais aguda da doença. Mostrou, pela primeira vez, que *Encephalitozoon* ou *Toxoplasma* era o agente etiológico de uma nova doença humana.

No final da década de 1950, a Divisão de Patologia, chefiada por M. Torres, foi transferida do Castelo para um prédio próprio de cinco andares (atual Pavilhão Carlos Chagas). A Divisão de Patologia, além da Seção de Anatomia Patológica, passou a ter a Seção de Hematologia e Medicina Experimental que contou com a atividade e competência de Walter Oswaldo Cruz que estudou vários aspectos da anemia ancilostomótica e dos processos de coagulação do sangue. Ernani Martins da Silva foi outro hematologista de Manguinhos que deixou vestígios permanentes de sua passagem pelo Instituto.

No seu apogeu, a Divisão de Patologia contava com elementos competentes nos mais diversos aspectos da anatomia patológica especial. Além de M. Torres, seu chefe, havia José Francisco Madureira Pará, especialista em hepato-patologia. Obteve larga experiência no Serviço de Febre Amarela da Fundação Rockefeller que, a partir de 1949, fora transferido para o IOC. Desse Serviço originou-se a maior Coleção de Febre Amarela do mundo, que atualmente está localizada no Departamento. A patologia fetal e do recém-nato tinha em Rita Alves de Almeida Cardoso uma especialista de alto valor. A dermatopatologia contava com Gilberto de Azevedo Teixeira, que realizou trabalhos relevantes em paracoccidioidomicose humana. O neuropatologista Alexandre Alberto de Alencar trouxe importantes contribuições sobre pan-encefalites subagudas esclerosantes, e foi o maior especialista em neuropatologia da doença de Chagas. Eitel Duarte, especialista em patologia ginecológica, e Jorge de Paula da Silva Guimarães



Granuloma em *Sarasinula marginata* centrada por larva de *Angiostrongylus costaricensis*, mostrando duas camadas nítidas: uma interna com células exibindo aspecto epitelióide e outra externa, pseudocapsular (tempo de infecção: cinco dias, HE, 310X)

desenvolveram linhas de pesquisa em carcinogênese experimental, estudando principalmente a ação biológica das radiações. A linha de cancerologia experimental foi mais tarde mantida por Itália Guarany Angiola Kerr, que ingressou no Instituto, em 1956, como bolsista e assistente de Jorge Guimarães.

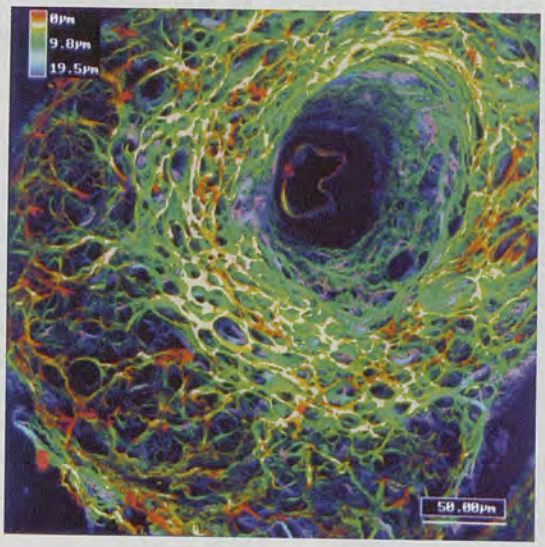
Em 1976, o IOC, já transformado em Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz, sofreu uma profunda reformulação na área da pesquisa. As divisões foram desarticuladas, algumas remanejadas e deslocadas de seus prédios. A Divisão de Patologia estava entre elas e teve seu material e pesquisadores dispersados. Durante cinco anos, os pesquisadores ficaram sem a menor possibilidade de realizar qualquer espécie de trabalho. Alguns deles foram, inclusive, obrigados a mudar suas linhas de pesquisa para se envolverem em programas temáticos, impostos pela Instituição. Em 1979, José Rodrigues Coura, ao assumir a Vice-Presidência de Pesquisa da Fundação e a Direção do Instituto, propõe, à Presidência da Fiocruz, a reorganização do IOC em departamentos, incluindo o de Patologia que, em 1981 foi reestruturado, ficando sob a chefia de Gilberto de A. Teixeira, e instalado, em condições precárias, no prédio Gomes de Faria (térreo), onde se encontra até hoje. Mais tarde, início de 1984, Henrique Leonel Lenzi e Jane Guilhermina Arnt Lenzi assumem o Departamento com a missão de modernizá-lo e dinamizá-lo.

Larva (L2) de *Angiostrongylus costaricensis* corada com oil red O (microscopia de varredura confocal a laser, código de profundidade por cores) (LSM 410, Zeiss)

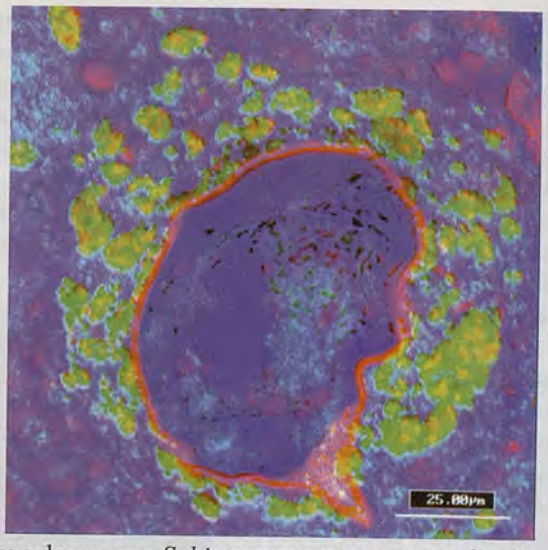
Naquele momento, trabalhavam no Departamento Gilberto Teixeira, que exercia a chefia, Itália G. A. Kerr, Roberto Mesquita e Guido V. Schaeffer. Henrique L. Lenzi e Jane G. A. Lenzi encontram pesquisadores e técnicos desatualizados, ausência de estudantes, equipamentos obsoletos e em precário estado, inexistência de biotério de experimentação em condições adequadas, ausência de registros e arquivos de material, que haviam sido perdidos (queimados?), além de paredes mofadas. A partir de 1984, foi iniciada a reestruturação do Departamento, com o intuito de retornar à filosofia inicial da Escola de Manguinhos, contudo, dentro da perspectiva da ciência atual. Para tanto, foram definidos e perseguidos os seguintes objetivos: 1) estudar temas de patologia humana, especialmente em doenças infecciosas e parasitárias (*patologia médica*); 2) estudar modelos experimentais, visando à intelecção da patogenia de doenças infecciosas ou outras, usando todos os recursos técnicos adequados e disponíveis do arsenal da pesquisa moderna (*patologia experimental*); 3) formar recursos humanos (pesquisadores e técnicos), com capacitação para a utilização, na pesquisa e no diagnóstico, dos avanços técnicos recentes (*formação de recursos humanos*).

Tendo como referencial os objetivos propostos, o Departamento traçou metas qüinqüenais bem definidas e, como estratégia operacional, deu destaque, a partir de 1984, aos seguintes aspectos, considerados importantes, para a expansão e aperfeiçoamento do Departamento: 1) recursos humanos: foram estabelecidas reuniões científicas internas, às vezes, com a participação de professores convidados, para o grupo de pesquisadores, estudantes, biólogos, técnicos e estagiários, visando ao aprimoramento, à homogeneização e ao entrosamento de toda a equipe. Além disso, foram contratados quatro funcionários, atendendo aos setores de secretaria, biotério de experimentação e laboratório; 2) espaço físico (ecologia ambiental): houve redistribuição de salas, pintura geral e melhoramento físico das salas, laboratórios e biotério de experimentação; 3. a) criação de novos setores de apoio à pesquisa, como secretaria, salas de reuniões, de estudantes e estagiários, de macroscopia, de reagentes e balanças, almoxarifado, blocoteca, arquivo de lâminas, novos infectórios, moluscário e lesmário; b) criação de novos laboratórios: esquistossomose (com manutenção do ciclo do *Schistosoma mansoni*), angiostrongilíase (com manutenção do ciclo do *Angiostrongylus costaricensis*), imunohistoquímica, histoenzimologia, cultura de células, imunopatologia, patobioquímica, microscopia óptica de alta resolução e ultra-estrutura (somente pré-microscopia eletrônica), patologia molecular (em planejamento) e tratamento de imagem, incluindo imagens em 3-D; 4) atividades de pesqüisa: manutenção de projetos

previamente existentes; estabelecimento de novos projetos intradepartamentais e interinstitucionais; 5) atividades docentes: o Departamento assumiu a coordenação, programação e administração de aulas teóricas e práticas de Patologia Geral e Inflamação I, nos cursos de pós-graduação do IOC; aperfeiçoou e ampliou a disciplina de Noções Básicas de Técnicas Aplicadas à Patologia Experimental, no Curso Técnico em Biologia Parasitária do IOC (ambos a partir de 1984) e, a partir de 1989, responsabilizou-se pela disciplina de Técnicas Histológicas, no Curso Técnico de 2° grau, da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV), Fiocruz; 6) orientação de estudantes: pós-graduandos, de iniciação científica (nível graduação) e do Programa de Vocação Científica da EPSJV (nível 2° grau) e estagiários de pesquisa e de área técnica, com desenvolvimento de teses, em nível de doutorado e mestrado, além de monografias (para conclusão de cursos de especialização, bacharelado e do Programa Avançado de Vocação Científica); 7) recuperação das coleções: a partir de julho de 1985, o Departamento iniciou os trabalhos de recuperação das Coleções de Peças Macroscópicas (Museu da Patologia) e de Febre Amarela (blocos, frascos com fragmentos de tecido de reserva, lâminas, arquivos com laudos histopatológicos e dados epidemiológicos, além de fichas clínicas correspondentes a 490.000 viscerotomias hepáticas). Em 1997, a Coleção de Febre Amarela recebeu, no Pavilhão Lauro



Granuloma hepático exsudativo-produtivo em Swiss Webster infectado com *Schistosoma mansoni* corado com ácido fosfomolíbdico-picrosirius red, analisado tomograficamente com microscopia de varredura confocal a laser (LSM 410, Zeiss) (código de profundidade por cores)



Granuloma por *Schistosoma mansoni* em fígado de *Calomys callosus* com macrófagos repletos de pigmento esquistossomótico (em amarelo) (LSM 410, Zeiss)

Travassos, uma área nova, planejada para sediar todo seu acervo.

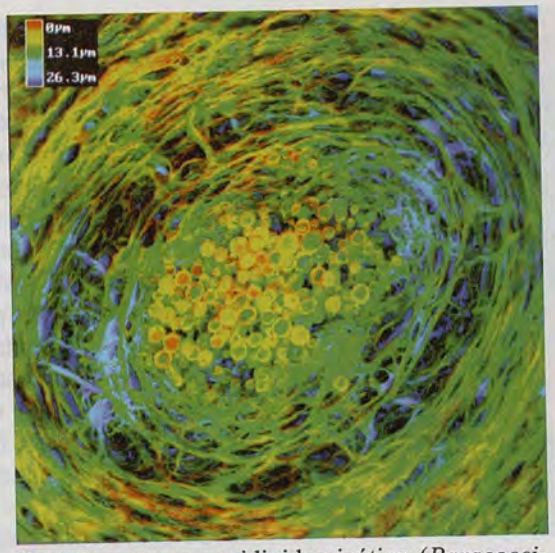
Após a montagem da infra-estrutura básica, o Departamento/Laboratório de Patologia instalou, entre o final de 1996 e 1997, um setor de microscopia avançada e multidisciplinar, que inclui microscópio de varredura confocal a laser (LSM-410, Zeiss), microscópio eletrônico de varredura (LEO, 435 VP), tipo ambiental, que opera com pressão a vácuo variável (alto e baixo vácuo) e temperatura controlada, possibilitando o estudo de espécimes não fixados e não metalizados, além de computadores, com softwares variados para análise e tratamento de imagens.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Estudo da patologia, imunopatologia e patogenia de doenças infecciosas e parasitárias (esquistossomose, angiostrongilíase, paracoccidioidomicose, tripanossomose e outras) – Enfoca as reações locais (ex.: granuloma) e sistêmicas (ex.: medula óssea, sangue e cavidades serosas) e analisa a participação de várias linhagens celulares e de componentes da matriz extracelular.

Mecanismos da eosinofilia parasitária e morfobiologia e desenvolvimento de órgãos linfóides e linfohematopoéticos – O Departamento/Laboratório pesquisa em material humano e em animais de laboratório, principalmente murídeos e cricetídeos, utilizando diversos modelos.

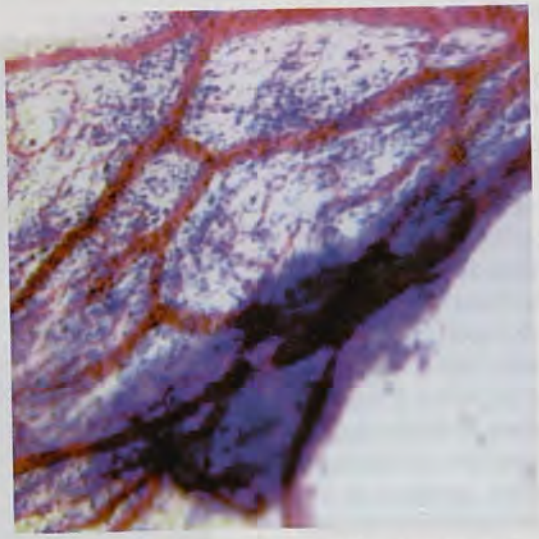
O Departamento/Laboratório segue, nas suas linhas básicas de pesquisa, a filosofia de trabalho aprendida na escola do Prof. Zilton de Araújo Andrade, da Universidade Federal da Bahia, que prioriza estudos sobre *mecanismos patogênicos dentro de um prisma morfobiológico funcional e multidisciplinar*. Essa filosofia de trabalho é concretizada através de interações com colegas de outras instituições e especialidades. Em artigo sobre histoarquitetura do granuloma esquistossomótico, publicado em 1998, participaram dois pesquisadores, bioengenheiros, especialistas em biomecânica, sendo um deles de Israel.



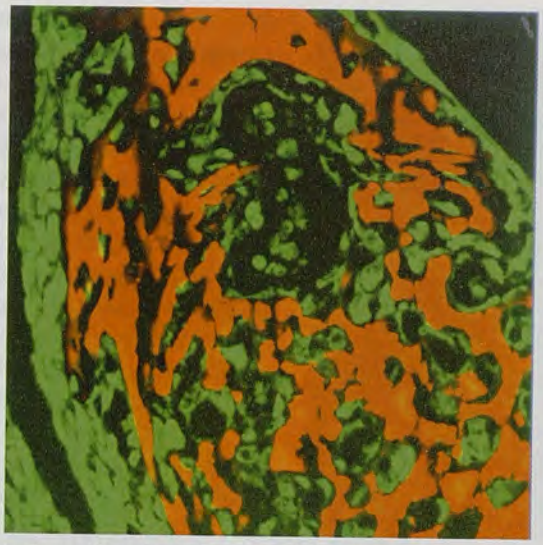
Granuloma paracoccidioidomicótico (*Paracoccidioides brasiliensis*) em rato (microscopia de varredura confocal a laser, código de profundidade por cores) (LSM 410, Zeiss)

Atualmente, o Departamento/Laboratório conta com três pesquisadores, um pesquisador visitante, uma tecnologista bióloga e dois técnicos de nível médio, além de vários bolsistas, principalmente estudantes de pós-graduação, em nível de mestrado e de doutorado.

De 1984 até o momento, ocorreu um grande salto de qualidade, tanto em recursos humanos, como em infra-estrutura. O Departamento procura preparar jovens para atuar, com criatividade, numa ciência em rápida transformação, propiciando-lhes vivência com os avanços tecnológicos da especialidade. São estimulados o espírito crítico e o questionamento de paradigmas como o antropocentrismo, a visão ontológica das doenças e a linearidade do pensamento. Em contraposição, propõe-se uma visão filogenética da biologia; o conceito de que os fenômenos patológicos são processos fisiológicos alterados (visão fisiológica das doenças) e a importância de começar a pensar e a delinear metodologias que explorem sistemas complexos. Salienta-se a importância da *qualidade* da pesquisa e de pesquisar ludicamente (mas com compromisso social), sem a mercan-tilização da "cienciometria" atual.


Omento humano mostrando uma rica trama vascular comunicante e a presença de uma mancha láctea (milky spot)

Entre as contribuições principais e originais dentro de suas linhas de pesquisa, destacam-se: 1) o encontro de um ciclo de *T. cruzi* em glândulas anais de *Didelphis marsupialis* que se assemelha ao existente no hospedeiro invertebrado (com o Departamento de Protozoologia); 2) a proposta de mecanismo complexo de eliminação de ovos do *S. mansoni* para a luz intestinal; 3) a caracterização da pancreatite esquistossomótica e a descrição de um órgão linfomielóide associado às cavidades celomáticas (CALT = *Coelomassociated Lymphomyeloid Tissue*) e sua participação em várias infecções (*S. mansoni*, *A. costaricensis*, *T. cruzi*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Plasmodium berghei)*. As publicações sobre a participação do CALT em doenças parasitárias foram pioneiras na literatura; 4) o estudo da participação de componentes da matriz extracelular em lesões de diversas etiologias (esquistossomose, angiostrongilíase, paraco-ccidioidomicose, hanseníase e adenoviroses), na análise do granuloma parasitário, através de um enfoque morfogenético (baseado em biologia do desenvolvimento) e multidisciplinar, incluindo histoarquitetura e bioen-genharia; 5) o Departamento instalou, pela primeira vez no Brasil, o ciclo do *A. costaricensis*, trazendo as seguintes contribuições: aprofundou o estudo da patologia da angiostrongilíase abdominal, detectou os primeiros hospedeiros vertebrados e invertebrados existentes no Brasil, reformulou o ciclo do parasito em hospedeiro definitivo e descreveu, detalhadamente, as intera-ções do *A. costaricensis* com o hospedeiro intermediário (esta



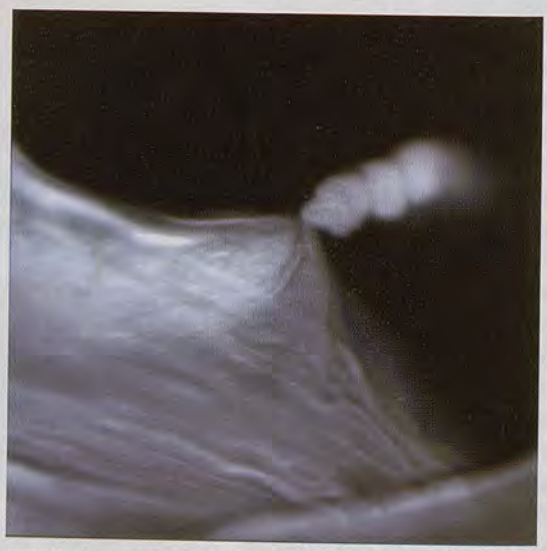
Área de ossificação e formação inicial de medula óssea em feto de camundongo (dezessete dias de gestação), corado em Alizarina Red S - Sulfato de Berberina e avaliado à microscopia de varredura confocal a laser (LSM 410, Zeiss)

parte do trabalho foi realizada em cooperação com o Laboratório de Helmintoses Intestinais, CPqRR, BH).

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

O esforço continuado e sério de toda a equipe de profissionais e estudantes fez com que o Departamento, nesses anos de reestruturação, alcançasse um patamar adequado para se converter em um núcleo de formação de recursos humanos em pesquisa, com condições de desenvolver trabalhos científicos de alta qualidade.

As perspectivas para o próximo qüinqüênio são as seguintes: 1) recursos humanos: concluir a formação acadêmica de alguns pós-graduandos, para que os mesmos possam prestar concurso e ser contratados. Isso possibilitará solidificar alguns setores do Departamento, como cultura de células, microscopia avançada com análise de imagens e patologia molecular. É importante frisar que o Departamento foi o primeiro, dentro da Fiocruz, a fechar o ciclo vocação científica-doutorado. Isto é, um aluno, Marcelo Pelajo-Machado, que iniciou o Programa de Vocação Científica com 15 anos de idade (durante o 2° grau), continuou como estagiário de iniciação científica durante o curso médico, graduou-se em medicina e, em seguida, foi aceito para doutoramento em biologia celular e molecular. No próximo qüinqüênio, pretende-se também contar com a colaboração de pesquisadores visitantes (há um, no momento) e estimular a presença de bolsistas em pós-doutoramento. Paralelamente à formação de jovens pesquisadores, o Departamento continua investindo na formação de técnicos de nível médio e superior, aptos a lidarem com os avanços tecnológicos; 2) infra-estrutura: as metas qüinqüenais serão as seguintes: a) área técnica: desenvolver o setor de patologia molecular (já foi adquirido equipamento para PCR em lâminas); introduzir técnicas de imunohistoquímica em microscopia eletrônica; comprar equipamentos para técnicas de fixação com crioproteção; b) centro de microscopia óptica avançada ou de alta resolução: adquirir microscópio confocal a laser, de última geração, acoplado com microscopia de dois fótons e desconvolução; ampliar o sistema de análise e tratamento de imagens, incluindo softwares e hardwares que possibilitem modelagens e imagens em 3-D. Com esses avanços técnicos, o Departamento pretende, cada vez mais, realizar estudos morfológicos/morfofisiológicos em três e quatro dimensões, reduzindo gradativamente os estudos com microscopia apenas bidimensional. O Departamento visará também à aquisição, quando adequada, de novos tipos de microscópios que estão surgindo, baseados em espectromicroscopia, microscopia de força atômica, ressonância magnética e ultra-som e, no futuro, em nanomicroscopia. Uma das grandes metas será ingressar, quando os métodos atingirem resoluções satisfatórias, na *microscopia vital*, que permitirá estudos dinâmicos *in vivo*, sem os artefatos de fixação atual; c) espaço físico: ampliar e reestruturar a área física, visando conforto e eficiência; d) mobiliar e informatizar a Coleção de Febre Amarela; e) reorganizar o Museu



Liberação de ovos por vulva de fêmea de *Angiostrongylus costaricensis* (microscopia de varredura confocal a laser) (LSM 410, Zeiss)

da Patologia; 3) objeto da pesquisa: apesar de manter as mesmas linhas de pesquisa, dar-se-á destaque a estudos com *material humano* e *estudos filogenéticos* (modelos variados incluindo animais invertebrados); 4) produtividade: com condições mais adequadas de infra-estrutura, e com recursos humanos mais qualificados espera aumentar a produtividade cientifica, tanto qualitativa como quantitativamente. Serão amplificadas as interações existentes com outros departamentos, universidades e centros de pesquisa com novas cooperações, quando apropriadas, buscando cada vez mais análises multi e interdisciplinares. As interações, em futuro imediato, serão amplificadas e facilitadas através de sistema completo de telepatologia; 5) compromisso social: o objetivo de fazer pesquisa de boa qualidade vem acompanhado do compromisso social e para isso o Departamento/Laboratório pretende: a) continuar a formação e treinamento de pessoal (pesquisadores e técnicos) interno e de outras instituições; b) desenvolver método(s) de diagnóstico sorológico da angiostrongiliase abdominal (inexistentes no mercado) para levantamento epidemiológico de prevalência dessa doença.

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
CHEFE: *Henrique Leonel Lenzi*

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA
CHEFE: *Jane Guilhermina Arnt Lenzi*

Ester Maria Mota	Assistente de Pesquisa
Henrique Leonel Lenzi	Pesquisador Titular
Jane Guilhermina Arnt Lenzi	Pesquisador Adjunto
Luzia Fátima Gonçalves Caputo	Tecnologista
Ronaldo Grechi Pacheco	Pesquisador Visitante/Uni-Rio

DEPARTAMENTO DE PROTOZOOLOGIA

HISTÓRICO

O início da Protozoologia em Manguinhos foi marcado por pesquisas citológicas sobre os mais diversos grupos de protozoários, quer parasitos ou de vida livre. Foram iniciadores desta escola Carlos Chagas e Henrique de Beaurepaire Aragão.

Aragão se destacou ao descrever o ciclo exoeritrocitário dos hemosporídeos, mais particularmente o *Haemoproteus columbae*. A descoberta do ciclo vital do *Haemoproteus* nos tecidos do pombo foi extremamente importante para o esclarecimento, mais tarde, do ciclo do *Plasmodium* causador da malária humana e contribuiu também para o prêmio conquistado na Alemanha.

Os trabalhos de protozoologia desenvolvidos por Chagas, estudando protozoários de vida livre, foram fundamentais para o estabelecimento de uma filosofia de trabalho que associava a pesquisa básica, desenvolvida nos laboratórios, aos trabalhos de campo e à pesquisa aplicada, tentando resolver problemas de patologia humana. A chamada pesquisa integrada, tão propalada nos anos 70, foi na realidade bem definida por Chagas e Aragão no início do século.

Aragão e Marques da Cunha desenvolveram muitas pesquisas sobre protozoários de água doce e os protozoários marinhos foram objeto de estudos de Cunha em colaboração com Gomes de Faria, descrevendo um grande número de espécies até então desconhecidas.

Hartmann e Chagas desenvolveram pesquisas na área da biologia celular contribuindo para a taxonomia de vários grupos e para o conhecimento dos processos mitóticos como os fenômenos de cariocinese de *Amoeba hyalina* e a sexualidade de *Bodo caudatus* que havia sido classificado anteriormente como *Prowazekia cruzi*.

Marques da Cunha e Julio Muniz estudaram a reprodução sexuada por endomixis do *Balantium* parasito de *Macaca mulata*, um processo de "rejuvenescimento" nuclear. Marques da Cunha se dedicou aos estudos de ciliados particularmente os parasitos de ruminantes e balantídios.

Gilberto de Freitas, introduzido na protozoologia por Marques da Cunha, estudou um gênero de flagelado do cupim extremamente interessante. Marques da Cunha também orientou Olympio da Fonseca Filho nos estudos sobre flagelados; Olympio descreveu inúmeros gêneros e espécies, dentre os quais o *Enteromonas hominis* que teve bastante repercussão na literatura por ser cosmopolita.

Em 1914 Marques da Cunha e Magarinos Torres descreveram casos de colite por *Chilomastix mesnili*. Já em 1916 Olympio da Fonseca publicava uma ampla revisão sobre os flagelados parasitos de mamíferos do Brasil.

Um outro parasito também interessante, estudado por Marques da Cunha e Julio Muniz, foi o *Endotrypanum schaudinni*, um tripanossomatídeo parasita de eritrócitos das preguiças, tendo sido investigados vários aspecto de sua biologia e evolução.

O diagnóstico da leishmaniose tegumentar foi descrito, concomitantemente, em 1909 no estado de São Paulo por Adolpho Lindenberg, Antonio Carini e Ulisses Paranhos, que encontraram parasitos nas lesões conhecidas por úlcera brava ou úlcera de Bauru. Em 1911, Gaspar Vianna trabalhando com técnicas de fixação e coloração mais finas, estudou a citologia das formas amastigotas descrevendo pela primeira vez o rizonema que constitui a parte interna do flagelo. Com base nos caracteres estruturais, Vianna descreveu uma nova espécie de *Leishmania* a *L. braziliensis* e, em 1913, descreve o cão como reservatório doméstico da *L. braziliensis*, encontrando o parasito em lesões da mucosa nasal. Aragão, em 1920, demonstrou experimentalmente que o flebótomo *Lutzomyia intermedia* é capaz de transmitir a *L. braziliensis* do homem para o cão. Somente vinte anos mais tarde foi demonstrada por Pessôa e Pestana a infecção natural de diferentes espécies de *Lutzomyia* com formas promastigotas.

Em 1936, Evandro Chagas fez, pela primeira vez, em território brasileiro, o diagnóstico da leishmaniose visceral em um paciente vivo. No ano seguinte Aristides Marques da Cunha e Evandro Chagas descreveram a *L. chagasi* como um novo protozoário patogênico para o homem. Cunha a seguir inicia testes de aglutinação para o diagnóstico sorológico diferencial das leishmanioses.

Em 1944, Julio Muniz assumiu a Seção de Protozoologia, em substituição a Aristides Marques da Cunha. Muniz se dedicou, preferencialmente, à imunoparasitologia, termo proposto por Gilberto de Freitas que defendia o ponto de vista de que sendo os modelos parasitários de grande complexidade, era mais fácil um parasitologista estudar imunologia para tentar resolver seus problemas que um imunologista geral com poucos ou nenhum conhecimento de parasitologia.

As pesquisas em imunologia no Instituto Oswaldo Cruz (IOC), começaram no início do século com Oswaldo Cruz aperfeiçoando o soro antipestoso, mas foi na área da protozoologia que teve seu grande desenvolvimento e em Julio Muniz um expoente.

Já em 1913 Cezar Guerreiro e Astrogildo Machado introduziram a reação de fixação do complemento, empregando como antígeno extratos de órgãos, principalmente o baço de cães jovens fortemente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. Foram de grande importância para os estudos iniciais das pesquisas em imunologia da doença de Chagas os estudos com formas de cultura desenvolvidos por Muniz e Freitas, que culminaram com o desenvolvimento de um meio líquido simplificado desenvolvido por Gilberto de Freitas (DP-30 e DP-40) que demostrou que o *Trypanosoma* não dependia de macromoléculas para o seu crescimento. As formas de cultura, produzidas em larga escala, permitiram a extração de um antígeno constituído por uma fração polissacarídica cuja técnica foi publicada por Muniz e Freitas em 1947.

Uma das áreas onde a protozoologia de Manguinhos se destacou foi a malária e o estudo de plasmódios da imensa fauna brasileira. As pesquisas de Aragão e Arthur Neiva, que descreveram as espécies *Plasmodium diploglossi* e *P. tropiduri*, parasitas de lagartos, tiveram continuidade através do século. Assim, Lobato Paraense realizou exaustivas pesquisas sobre o ciclo-exoeritrocitário dos plasmódios e deu especial atenção à malária aviária.

Como é sabido, Carlos Chagas havia introduzido o conceito da *infecção domiciliar da malária*. No início do século o controle da malária era realizado pelo desenvolvimento de grandes obras de engenharia visando acabar com pântanos e alagados, por meio de aterros e dragagens de grandes áreas, um trabalho de custos elevados e execução demorada, inviáveis para a grande extensão dessas áreas no Brasil. Chagas observou que as nuvens de anofelinos que saem dos pântanos ao entardecer têm pouca ou nenhuma importância epidemiológica, pois os vetores ainda não estariam infectados. A estratégia de Chagas foi borrifar com inseticidas as casas, local onde os mosquitos se infectariam e ampliariam surtos epidêmicos.

Mario Pinoti deu uma contribuição importante ao observar que em certas regiões do Brasil o emprego de inseticidas residuais não teria sentido, pois na Amazônia muitas populações vivem em casas abertas, com paredes baixas. Pinoti introduziu o uso compulsório de antimaláricos preventivos como por exemplo o sal cloroquinado.

Na década de 60 a protozoologia começou a entrar em declínio e com o objetivo de reativá-la Herman Lent, ao assumir a Divisão de Zoologia Médica, colocou Felipe Nery Guimarães como chefe da Seção de Protozoologia e transferiu Sylvio Celso Gonçalves da Costa da Seção de Helmintologia para a de Protozoologia.

Nery Guimarães dava continuidade ao trabalho de Magarinos Torres, que em 1927 havia mostrado que o *Toxoplasma* era o agente de uma nova doença com aspectos anátomo patológicos graves, incluindo hidrocefalia, meningo-encefalite e miocardite e que podia ser congênita. Mais tarde, em 1943, demonstrou meningo-encefalite também em adulto; nessa época desenvolveu estudos com Herta Mayer demonstrando o papel do conoide na penetração do parasita nas células. Na década de 60 essas pesquisas foram revigoradas e, juntamente com Hely Lage, Noêmia Grimberg e Ismélia Venâncio realizaram-se vários estudos sobre a reação de imunofluorescência aplicada ao diagnóstico da toxoplasmose que, face aos resultados bastante seguros, passou a substituir a reação de Sabin-Feldman que oferecia mais riscos do ponto de vista da biossegurança, em relação aos técnicos dos laboratórios. Na época Nery-Guimarães conseguiu a transmissão de toxoplasmas de aves para mamífero e Alexandre Alencar descrevia a toxoplasmose no sistema nervoso central de animais de sangue frio, tanto em *Bufo marinus* quanto em *Leptodactylus ocellatus*. Vários autores publicaram trabalhos sobre a toxoplasmose em anfíbios, encontrando o parasita no sangue periférico e em diferentes órgãos, o que levou Gonçalves da Costa a rever o assunto e demonstrar que estágios em forma de "toxoplasmas" de vários gêneros de protozoários, incluindo-se *Dactylosoma, Haemogregarina e Lankesterella*, eram pelo aspecto da forma em bananas confundidos com o *Toxoplasma*. Mais recentemente, Sérgio Coutinho avaliou o risco de transmissão congênita da toxoplasmose no Rio de Janeiro e isolou o *T. gondii* do solo durante um surto epidêmico da doença e Maria Regina Amendoeira isolou, pela primeira vez, o *T. gondii* da saliva de indivíduo assintomático. Gonçalves da Costa, em colaboração com Monica Barth, iniciou uma linha de trabalho na área da biologia celular de protozoários estudando a ultra-estrutura da membrana das gregarinas do gê-

nero *Stenophora* no Laboratório de Microscopia Electrônica do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Desenvolveu também, em colaboração com Neize de Moura Pereira, Solange Lisboa Timm, Moacyr Rebello e Wanderley de Souza, novas tecnologias de fracionamento subcelular o que permitiu o emprego de antígenos purificados de *T. cruzi* no estudo da imunidade celular tanto na doença de Chagas experimental como na leishmaniose. Neize Pereira trabalhou também com fracionamento subcelular de tripanossomatídeos monogenéticos.

Nessa ocasião o IOC estava em crise, os pesquisadores com salários baixos e poucos com dedicação exclusiva. A protozoologia, entretanto, mantinha seus pesquisadores em tempo integral e dedicação exclusiva, incluindo os estudantes. O Laboratório era apoiado pelo Pide, Programa Integrado de Doenças Endêmicas do CNPq, que fornecia recursos para a pesquisa em bom nível. Numa reunião da Presidência da Fiocruz alguém comentou que a Instituição estava morrendo. O presidente da Fiocruz, Vinícius da Fonseca, resolveu tomar uma série de medidas para recuperar a Instituição. Um dos pontos enfatizados foi investir na protozoologia, pela sua importância histórica e atual, pois os problemas de patologia humana e veterinária nesta área continuavam desafiando a ciência e as autoridades sanitárias. Foram estabelecidos dois convênios de cooperação de âmbito internacional: um com a França e outro com a Alemanha envolvendo diretamente os governos federais destes dois países. Assim, Neize de Moura Pereira foi trabalhar no Bernhardt Nocht Institut de Hamburgo e Sylvio Celso Gonçalves da Costa e Neide Thomaz no Instituto Pasteur de Paris.

Assumindo a direção do IOC, em 1979, José Rodrigues Coura trouxe Maria P. Deane para a chefia do recém-criado Departamento de Protozoologia e pediu aos pesquisadores que estavam no exterior que voltassem para que o Instituto fosse reestruturado, ficando estabelecido um acordo de cavalheiros entre o diretor do Instituto e os pesquisadores, permitindo o retorno dos mesmos ao exterior para complementar o trabalho lá iniciado.

Uma nova fase da protozoologia ocorreu nos anos 80, quando vários laboratórios de diferentes departamentos tinham seus projetos mais importantes nesta área. No Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Carlos Morel introduziu a técnica de análise de schizodema baseada na análise por eletroforese em gel de fragmentos de k-DNA obtidos por endonucleases de restrição, que se mostrou importante para a caracterização de tripanossomatídeos. Hooman Momen desenvolveu estudos para caracterização de parasitas por métodos bioquímicos, usando a eletroforese para detectar variantes enzimáticos que permitissem caracterizar populações de parasitos. Essa técnica vem sendo de grande valor para identificação de leishmanias. Momen introduziu a pesquisadora Elisa Cupolilo que tem expandido esta área de identificação de leishmanias. No Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular, Maria Nazareth Meirelles e Mirian C. S. Pereira vêm, há alguns anos, estudando a relação do *T. cruzi* com a célula hospedeira; neste particular se destaca o estudo sobre as alterações da fibra muscular cardíaca durante a invasão pelo *T. cruzi*. Na realidade este trabalho investiga *in vitro* a lesão de Magarinos Torres descrita *in vivo* por Torres em 1917. Estas ligações do presente com o passado é que dão às investigações na área da protozoologia no IOC um sabor especial e mantém viva a mística de Oswaldo Cruz e Carlos Chagas.

No Departamento de Protozoologia, com a volta dos pesquisadores que estavam no exterior e a manutenção das cooperações lá estabelecidas, foi iniciada uma nova fase com três grupos de pesquisadores tendo Maria Von Paumgarten Deane como chefe do Departamento, além de Sérgio G. Coutinho e Sylvio Celso G. da Costa como chefes de laboratório.

Maria Deane desenvolveu estudos sobre o gambá como reservatório silvestre da doença de Chagas, fato este há longo tempo estudado mas nunca aprofundado. Em colaboração com Ana Jansen e Henrique Lenzi mostrou que o gambá tem uma situação extremamente particular, pois neste hospedeiro encontramos na glândula de cheiro o desenvolvimento do ciclo do invertebrado e o ciclo normal dos vertebrados nos outros sistemas do organismo. Coutinho e Gonçalves da Costa introduziram as metodologias para estudo de imunidade celular, *in vitro* e *in vivo*, respectivamente.

Sérgio Coutinho demonstrou, em colaboração com pesquisadores do Centro de Treinamento em Imunologia Parasitária da OMS, os fenômenos de citotoxidade em que macrófagos parasitados com leishmania são lisados por linfócitos T citotóxico além de ter introduzido no IOC, e pela primeira vez na América Latina, as técnicas de citometria de fluxo. Estudou, tendo como colaboradores Sérgio Mendonça e Alda Maria da Cruz, as alterações em subpopulações de linfócitos T durante o curso da infecção por *L. braziliensis* demonstrando, também, o importante papel de células T $CD8^+$ no mecanismos de cura e proteção de leishmaniose tegumentar.

Gonçalves da Costa demonstrou, no modelo experimental, a importância da resposta T dependente na doença de Chagas trabalhando com camundongos atímicos e realizando transferência de células T.

As células T transferidas restauram o processo inflamatório inexistente em camundongos nude. Este fenômeno é independente do backgrownd genético dos camundongos.

Em 1990, ao assumir a chefia do Departamento de Protozologia, Gonçalves da Costa encontrou um período de reformas no IOC. A estrutura departamental fora mantida mas a unidade de grupo de pesquisa fora também reconhecida, criando-se a estrutura laboratorial. Três laboratórios foram credenciados e vêm sendo recredenciados periodicamente por comissões externas: Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos, Laboratório de Imunologia Humoral e Celular em Protozooses, hoje transferido para o Departamento de Imunologia, e Laboratório de Imunomodulação.

Com uma preocupação permanente na formação de recursos humanos, através da coordenação de muitas disciplinas e orientação de teses de mestrado e doutorado, os pesquisadores vêm mantendo uma produção científica crescente. As teses de estudantes do Departamento têm trazido também contribuições importantes para a ciência, como por exemplo: os estudo imunopatológicos desenvolvidos por Sônia Newmann Cupolilo, que descreveu as lesões orais na leishmaniose tegumentar experimental; Paula de Luca com trabalhos sobre vacinação na leishmaniose; Kátia Calabrese sobre a doença de Chagas em hospedeiros imunocomprometidos; Celeste de Souza sobre fenômenos de premunição na leishmaniose humana, demonstrando, em colaboração com Manoel Paes de Olíveira-Neto, a presença de amastigotas viáveis nas cicatrizes de pacientes com cura clínica da doença; e muitas outras contribuições que têm sido invariavelmente publicadas em revistas de grande impacto e despertado o interesse da comunidade científica internacional, contribuindo dessa forma para a construção da protozoologia contemporânea do IOC.

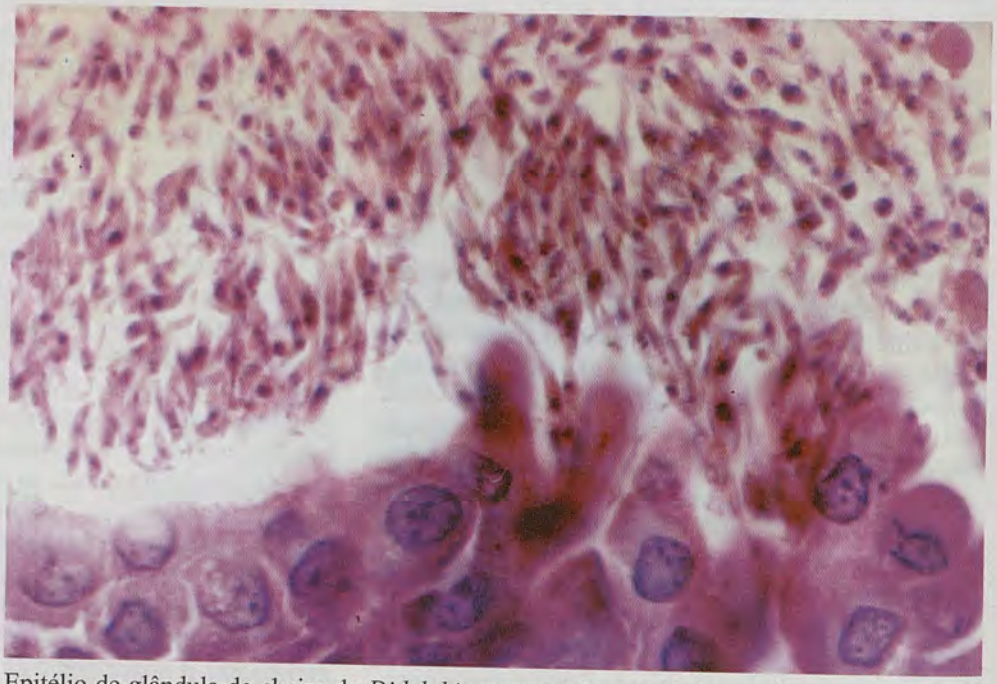
LINHAS DE PESQUISAS DO DEPARTAMENTO

Muitas das linhas de pesquisas em desenvolvimento na atualidade são motivadas por problemáticas levantadas no passado, agora retomadas com os recursos da tecnologia moderna.

Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos

Trypanosoma cruzi no ecótopo silvestre – As peculiaridades da interação com seus reservatórios e a dinâmica dos ciclos de transmissão – O objetivo principal do Laboratório é conhecer a dinâmica dos ciclos de transmissão de tripanossomatídeos dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* no ecótopo silvestre.

O estudo da interação do *T. cruzi* com seu, provavelmente, mais primitivo hospedeiro mamífero, o gambá *Didelphis marsupialis,* resultou no esclarecimento de aspectos inéditos referentes à biologia do *T. cruzi* desde que Maria Deane e colaboradores observaram que os dois ciclos de multiplicação do parasita podem ocorrer simultaneamente no *D. marsupialis.* O encontro, nas glândulas de cheiro do *D. marsupialis,* de formas epimastigotas, multiplicando-se e diferenciando-se abundantemente, até então descrito apenas nos triatomíneos, demonstrou ser o gambá, ao mesmo tempo, reservatório e vetor e



Epitélio de glândula de cheiro de *Didelphis marsupialis* parasitado por *Trypanosoma cruzi.* Foto: Renato Marchewski, Ana Maria Jansen e João Carlos Araújo Carreira. Aumento 1000X. Coloração HE

apontou para a necessidade de revisão cuidadosa da biologia dos tripanossomatídeos de um modo geral e do *T. cruzi* em particular a fim de esclarecer a importância desse achado na manutenção do parasita na natureza. Vale lembrar que epidemias circunscritas da doença de Chagas, não explicáveis pelos mecanismos habituais de transmissão por triatomíneos, são há muito conhecidas e muito antes da descrição do ciclo do *T. cruzi* nas glândulas anais do gambá já se havia sugerido uma correlação entre a presença de gambás e um surto epidêmico da doença de Chagas em Nova Teutônia, RS.

O estudo da dinâmica da transmissão do *T. cruzi* entre marsupiais em um fragmento da Mata Atlântica de Altitude em Teresópolis, RJ, mostrou que o *T. cruzi* pode circular de forma independente entre duas espécies de marsupiais, filogeneticamente. Tem-se visto que o ciclo silvestre do *T. cruzi* é muito mais complexo do que se sabia.

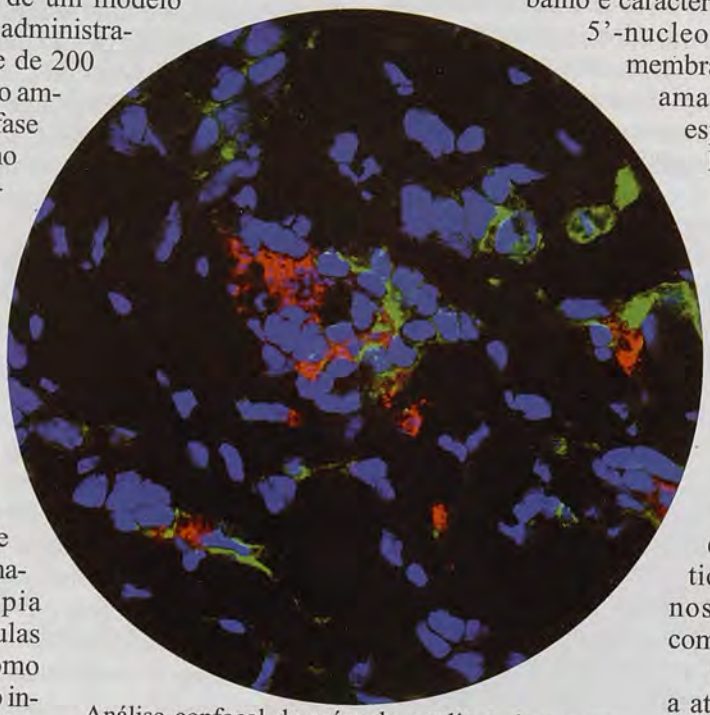
A complexidade do ciclo silvestre de transmissão do *T. cruzi* vem sendo confirmada por nossos estudos na Reserva Biológica de Poço das Antas onde observamos que o *T. cruzi* infecta marsupiais, roedores, edentados e primatas em três ciclos de transmissão independentes do estrato florestal ou habitat dos animais examinados. A enzootia nessa área da Mata Atlântica apresenta características peculiares: os marsupiais apresentaram uma prevalência de infecção muito baixa (5%), inferior, inclusive à dos roedores (3%). No entanto, pode-se detectar infecção por *T. cruzi* em 50% dos exemplares de mico-leão-dourado que, nessa área, se torna o reservatório mais importante. A caracterização bioquímica dos isolados de *T. cruzi* de Poço das Antas mostrou que o isolado de *T. cruzi* do único triatomíneo coletado (*T. vitticeps*), correspondeu a um zimodema diferente, o que sugere que esse inseto não está envolvido com a transmissão do parasita entre os roedores, preguiça e marsupiais. Por outro lado, os isolados da preguiça, roedores e marsupiais corresponderam a 51 e aqueles dos micos-leões a 42. O encontro de subpopulações do tipo Z2, associado sempre às infecções humanas circulando no ambiente silvestre, é intrigante e sugere que além do potencial de domiciliação do inseto vetor, o tipo da subpopulação de *T. cruzi* que circula na área e os reservatórios (que diferem em cada área) pode definir o estabelecimento ou não de um ciclo domiciliar de transmissão. Mais ainda, *Leontopithecus rosaiia*, uma espécie de primata ameaçada de extinção, vem sendo submetido a um programa de conservação coordenado por uma organização não governamental (Associação do Mico-Leão-Dourado) que inclui translocação e reintrodução. O encontro de 50% desses animais infectados com uma subpopulação de *T. cruzi* associada ao ciclo domiciliar de transmissão, mostra a necessidade de se avaliar eventuais riscos que o tipo de manejo a que estão submetidos significa para as populações do entorno.

Laboratório de Imunomodulação

Modulação da resposta do hospedeiro por antígenos parasitários – Muniz e Penna Azevedo reproduziram a miocardite chagásica inoculando macacos rhesus com antígenos do *T. cruzi* oriundos de formas mortas de cultura do tripanossomatídeo. Partindo-se deste fato foi estabelecida uma linha de pesquisa visando descriminar antígenos protetores de antígenos indutores de processos patogênicos. Frações subcelulares de formas de cultura do parasito têm sido empregadas na indução de imunidade celular e investigadas possíveis correlações com fenômenos imunopatológicos e com a resistência ao *T. cruzi*. Em trabalhos anteriores foi demostrado que frações de flagelo do *T. cruzi* são capazes de facilitar a infecção. Pesquisadores argentinos demonstraram a existência de um antígeno na fração de flagelo, com propriedades immunossupressoras, capaz de inibir a proliferação de células esplênicas quando submetidas a uma estimulação antigênica ou à ação de um mitógeno. As experiências desenvolvidas por pesquisadores do Laboratório em colaboração com Phillipe Lagrange mostram que o BCG reverte esta situação, tornando a fração flagelar um antígeno protetor e amplificando a hipersensibilidade retardada aos antígenos flagelares. Experiências em curso, no momento, investigam se esta amplificação da expressão da hipersensibilidade retardada, correlacionada com uma resistência consistente, pode influenciar algum aspecto da imunopatologia quando se promove uma reinfecção. Estudos sobre a imunidade local têm mostrado que o eosinófilo tem uma participação importante no controle da carga parasitária do inoculo de reinfecção. A natureza do infiltrado inflamatório está sendo analisada pela microscopia confocal, investigando-se subpopulações de linfócitos T. Investiga-se também a expressão de linfocinas no local do foco inflamatório e sistemicamente. Inúmeros trabalhos foram publicados pelo grupo sobre o assunto. A indução de imunidade celular por frações de flagelo purificadas, exprimindo um estado de hipersensibilidade retardada a proteínas do flagelo e também a uma dose infectante de tripomastigotas. Esta expressão de imunidade celular está associada à resistência resultando uma proteção de 100%. Este modelo tem permitido estudos sobre as reinfecções na doença de Chagas experimental.

Doença de Chagas em animais imunocomprometidos – A tripanossomiase americana, por oca-

são de sua descoberta, foi descrita por Carlos Chagas como uma doença com formas dramáticas e de caráter sistêmico. Na realidade Chagas estudou a doença principalmente em crianças muito jovens e muitas vezes imunocomprometidas pela subnutrição e pelo poliparasitismo que acometia as populações de regiões pobres. Na atualidade, em função de várias situações correntes na clínica médica, a doença de Chagas, associada com estados de imunodeficiência, vem se tornando cada dia mais freqüente (terapia com imunossupressores em pacientes chagásicos com câncer, transplante de órgãos onde o paciente pode receber o órgão infectado, ou em casos de pacientes chagásicos realizando um transplante de coração, ou pacientes chagásicos crônicos que se infectam com um vírus como o HIV). A carência de dados experimentais associando drogas imunossupressoras e a infecção pelo *T. cruzi* motivou os pesquisadores do Laboratório a estudarem a ação de drogas como a ciclofosfamida (CY), ciclosporina A (CsA), dexametazona (Dexa) e a indometacina, modulando o curso da infecção experimental em camundongos. A ação da CY apresentou resultados extremamente interessantes, permitindo a construção de um modelo bimodal. Assim, a CY administrada em uma única dose de 200 mg/kg antes da infecção amplifica a miocardite na fase aguda no modelo murino e amplifica a hipersensibilidade retardada induzida pelo flagelo, mesmo em modelos onde o BCG foi empregado como imunomodulador. Empregada cinco dias após a infecção pela cepa Y do *T. cruzi* promove uma exacerbação da infecção. Este modelo tem permitido analisar, pela microscopia confocal, quais as células que se apresentam como majoritárias no infiltrado inflamatório. Essa análise está sendo estendida a outros imunossupressores, mantendo-se cooperação com o Laboratório de Renato Mortara, da Escola Paulista de Medicina. Vários trabalhos têm sido publicados sobre o assunto, destacando-se o que demonstra a amplificação da miocardite pela CY administrada antes da infecção experimental no modelo murino e o que descreve o modelo bimodal, em que a CY injetada, antes ou após a infecção, determina uma miocardite exacerbada sem parasitos tissulares no primeiro, ou uma colonização intensa dos tecidos sem processo inflamatório no segundo.



Análise confocal de músculo cardíaco de camundongo infectado com 10^4 formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, cepa Y, tratado com ciclosporina A (200 mg/kg) dois dias antes da infecção. Observa-se um infiltrado inflamatório moderado formado principalmente por macrófagos (marcados em verde-FITC) infectados por amastigotas (marcadas em vermelho-cy3) no 12º dia após a infecção. Os núcleos aparecem marcados em azul (DAPI).

Caracterização bioquímica de frações subcelulares de Leishmania amazonensis e L. chagasi e Trypanosoma vivax – As espécies *L. chagasi* e *L. amazonensis* interagem com células do hospedeiro mamífero e têm algumas atividades enzimáticas em sua membrana plasmática. A ectoenzima 5'-nucleotidase é encontrada em uma grande variedade de células de mamífero, entre elas os macrófagos cujo estágio fisiológico expressa alterações na atividade 5'-nucleotidase. Esta enzima tem sido encontrada em algumas espécies do gênero *Leishmania* e está sendo investigada em cepas de *L. chagasi, L. amazonensis e L. braziliensis* isoladas de surtos de leishmaniose tegumentar e de calazar canino ou humano. Um dos objetivos do trabalho é caracterizar bioquimicamente a 5'-nucleotidase em frações de membrana de promastigotas e amastigotas de diferentes espécies de *Leishmania*. Igualmente investigar a atividade de ATPases em cepas de *Leishmania*. Algumas cepas crescem, preferencialmente, em meios rico em potássio enquanto outras em meios com a concentração de sódio e potássio em níveis normais, isto é, em concentração idêntica àquela encontrada nos meios tradicionais como o LIT.

Será avaliada também a atividade enzimática de enzimas marcadoras de frações subcelulares visando determinar o grau de pureza das frações e o nível de contaminação de uma determinada fração com componentes de outras. Este projeto está, no

momento, sendo desenvolvido em colaboração com a Universidade Federal de Juiz de Fora. A mesma metodologia está sendo empregada no modelo do *T. vivax*.

A principal contribuição nesta linha é o trabalho que descreve o método de fracionamento e mostra uma atividade de fosfatase ácida elevada na fração enriquecida de membrana plasmática.

O timo e a resposta T dependente na doença de Chagas experimental – Várias alterações do compartimento da resposta T-dependente têm sido mostrada em inúmeros trabalhos, tanto na doença de Chagas experimental quanto humana. Tais alterações envolvem o aumento de atividade supressora derivada tanto de macrófagos quanto de células T supressoras. Em conseqüência, observa-se um bloqueio na supressão da produção de IL-2, decréscimo de populações de células T no baço e uma ativação policlonal intensa no modelo experimental. A importância do timo na doença de Chagas experimental foi demonstrada, inicialmente, por trabalhos mostrando o agravamento da infecção após timectomia e a seguir por trabalhos desenvolvidos por pesquisadores do Laboratório (em colaboração com pesquisadores do Instituto Pasteur e do Hôpital Saint Louis de Paris), empregando camundongos atímicos. Com o intuito de investigar parâmetros da imunidade natural, experiências empregando camundongos nude de diferentes padrões genéticos estão sendo desenvolvidas. A análise de padrões de linfocinas, de subpopulações de LT e das lesões inflamatórias estão sendo conduzidas para avaliar a imunidade celular dos grupos de camundongos litermates. Os resultados preliminares mostram que nenhum fator da imunidade natural por si só explica as diferenças entre camundongos sensíveis e resistentes. Esta análise está sendo realizada com técnicas de marcagem de receptores empregando a microscopia confocal e técnicas de imunohistoquímica ultra-estrutural. Dessa forma, procura-se encontrar fatores da imunidade especifica que expliquem a diferença de susceptibilidade de linhagens de camundongos isogênicos à infecção experimental pelo *T. cruzi*. Este estudo está sendo desenvolvido com cepas de *T. cruzi* chamadas de polares infectando camundongos singênicos apresentando diferentes haplotipos (H_2). A contribuição mais importante desta linha está contida no trabalho que descreve a colonização do timo e o tipo de célula colonizada pelo *T. cruzi* no modelo experimental, empregando a microscopia óptica e eletrônica.

Desenvolvimento de uma vacina contra o calazar canino – O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a leishmaniose visceral canina requer, inicialmente, a identificação de alguns mecanismos imunológicos básicos que ocorrem durante o curso da infecção. Inicialmente precisamos ampliar os conhecimentos de mecanismos de adesão do parasito ao macrófago, sua diferenciação, sobrevida e multiplicação das formas amastigotas. Um outro ponto crítico está relacionado com os mecanismos de supressão induzidos pelo parasito, que implicam, entre outras coisas, na supressão da HR especifica a antígenos da leishmania. Muitas vacinas anti-leishmania se baseiam na indução de HR por antígenos do parasito; assim, as investigações envolvendo o antígeno de escolha constituem um passo importante. Foi desenvolvida no Laboratório uma vacina constituída da fração microssomal oriunda do fracionamento subcelular de promastigotas. Esta vacina foi denominada RIBOLEISH e foi ensaiada com sucesso na leishmaniose tegumentar, em camundongos albinos, quando associada ao BCG. O BCG tem a propriedade de induzir uma resposta primordialmente do tipo Th1 ou modificar uma resposta já estabelecida, polarizando a ativação de células $CD-4^+$ para o sub-tipo Th1. A avaliação da vacina RIBOLEISH aplicada ao cão envolve histopatologia, título de anticorpos, ensaios de proliferação blástica, estudos imunohistoquímicos, etc. Outras frações serão testadas e proteínas identificadas pelo western-blotting serão isoladas e purificadas e sua homologia com seqüências de amino-ácidos conhecidas será também estudada. Adjuvantes, como o adjuvante de Freund completo, que tende a induzir uma resposta Th1 e o adjuvante de Freund incompleto, que tende a induzir preferencialmente uma resposta do tipo Th2, estão sendo empregados como ferramentas de investigação sobre a imunologia das leishmanioses. Estudos com promastigotas irradiadas ou tratadas por drogas bloqueadoras da divisão celular estão em andamento.

O sistema hematopoiético e o sistema linfóide: suas alterações em resposta a patógenos intracelulares – Em certos tecidos, como os órgãos linfóides e a medula óssea, os macrófagos são caracterizados pela presença de extensões dedríticas que ficam estreitamente associadas às células do microambiente do parênquima linfóide. A presença de microrganismos (micobactérias, *T. cruzi*, *Leishmania*) nesse ambiente colonizando os macrófagos altera inúmeros aspectos da fisiologia desses órgãos. A fisiopatologia desses órgãos no modelo murino, empregando camundongos sensíveis e resistentes, está sendo investigada em diferentes modelos. A caracterização das células colonizadas, apresentação de antígenos e alterações da circulação dessas células em órgãos não linfóides também está sendo investigada.

Caracterização da atividade de enzimas ATPases em diferentes espécies de Leishmania – Esta linha de pesquisa vem sendo desenvolvida em colaboração com pesquisadores da Universidade Federal de Juiz de Fora. Em resumo, os projetos envolvem: a) estudo da imunogenicidade da ATP difosfohidrolase de *Schistosoma mansoni* através da imunorreatividade cruzada detectada com a ATP difosfohidrolase de batata. Tem como objetivo estabelecer o papel da enzima na interação parasita-hospedeiro, visando seu uso como vacina e/ou imunodiagnóstico; b) análise dos efeitos de drogas sobre a atividade hidrolítica de ATP difosfohidrolases. Tem como objetivo estudar a estrutura organizacional dessas proteínas, analisando-as como um possível alvo de drogas esquistossomicidas; c) isolamento e caracterização de fração subcelular imunogênica da forma promastigota de *L. amazonensis*. Visa ao isolamento, identificação e purificação das proteinas responsáveis pela proteção previamente observada em camundongos inoculados com frações subcelulares de promastigotas de *L. amazonensis*.

Epidemiologia e ecologia das leishmanioses – Isolamento e caracterização de cepas de *Leishmania* de lesões de pacientes oriundos de regiões endêmicas, tanto de calazar quanto de formas tegumentares. Pesquisa de antígenos do parasito por PCR ou formas viáveis de *Leishmania* (por isolamento em cultura) de cicatrizes de habitantes de regiões endêmicas. Imunopatologia das cicatrizes de paciente "clinicamente curado" realizando investigações sobre a imunologia local das lesões cicatriciais, base dos fenômenos de premunição. Pesquisa de reservatórios domésticos e silvestres, realizando estudos histopatológicos das lesões e investigações sobre os flebotomíneos das microrregiões afetadas. Regiões onde se realizam as investigações: Mato Grosso do Sul, Maranhão (São Luís), Rio de Janeiro (Rio das Flores, Valença e Rio Preto), Rio Grande do Norte (Natal).

Imunopatologia da leishmaniose experimental e humana – Estudo imunopatológico de lesões causada por *L. amazonensis* e *L. chagasi* em camundongos sensíveis e resistentes e em cães. Investigações sobre lesões metastáticas. Investigações sobre o papel do mastócito no processo inflamatório. Seu envolvimento nos fenômenos de hipersensibilidade retardada. O camundongo como modelo de estudos de lesões orais na leishmaniose tegumentar.

Imunologia da leishmaniose tegumentar e do calazar humano. Participação de subpopulações de linfócitos T nos processos de resistência e na imunopatologia da leishmaniose tegumentar e na forma mucocutânea. Fenômenos de citotoxidade.

Investigações sobre a ocorrência de babesiose humana no estado do Rio de Janeiro – Pesquisa de babésia em pacientes imunocomprometidos ou que foram submetidos a esplenectomia. A investigação é acompanhada de estudos hematológicos e imunológicos. Além da caracterização da espécie de babésia envolvida, o isolamento do parasito está sendo realizado em animais de laboratório (camundongo, hamster e rato).

Toxoplasmose: estudos epidemiológicos e diagnóstico laboratorial em gestantes, imunocompetentes e imunossuprimidos – A infecção fetal poderá ser atenuada através da terapêutica se houver a triagem precoce de gestantes de risco, seguida de um acompanhamento sorológico periódico. Seguindo esta linha temos trabalhado há alguns anos no tema toxoplasmose congênita. Tem-se alguns projetos em colaboração com o Instituto Fernandes Figueira, Fiocruz, mais recentemente com o Hospital Municipal Paulino Werneck, no Rio de Janeiro e na Região Sul com o Lacen de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Este último, faz parte do programa piloto para vigilância epidemiológica da toxoplasmose em crianças da Secretaria de Saúde e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul. A pesquisa faz parte do programa de controle de toxoplasmose na gravidez da Delegacia Regional de Saúde de Erechim, região de maior prevalência da toxoplasmose ocular adquirida do mundo, do qual fazem parte a Seção de Saúde da Mulher, a Seção de Vetores e Zoonoses e o Laboratório Central do Estado, existindo desta forma o apoio e acompanhamento dos secretários municipais de saúde da região composta por 33 municípios.

Visando favorecer o controle da toxoplasmose, através de sua prevenção, estamos desenvolvendo um projeto em biologia molecular, a fim de se obter uma proteína recombinante imunoprotetora. Em uma segunda etapa iniciaremos projetos para desenvolvimento de uma vacina. Este projeto tem a colaboração de grupos internacionais: Instituto Malbrán, Buenos Aires, Argentina e Instituto Finlay, Havana, Cuba.

Um outro aspecto da nossa linha de pesquisa é o estudo do efeito da micotoxinas como agente de imunossupressão em animais e o papel desta no curso da infecção por *T. gondii*.

Todos os projetos desenvolvidos, embora de pesquisa, estão comprometidos com o diagnóstico e a profilaxia da parasitose além de fazerem parte da formação de pessoal, desde do estagiário de iniciação científica, passando pelo de aperfeiçoamento de nível médio (técnico), de especialização, mestrado e doutorado.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

O projeto do Departamento se inspira na filosofia do modelo de instituição de ciência criado por Oswaldo Cruz e na organização implementada pelo Estados Unidos da América. Assim, desenvolveremos pesquisas nos laboratórios em estreita colaboração com instituições sediadas em zonas endêmicas relacionadas às temáticas do Departamento e que facilitam a ida e vinda de pesquisadores que trabalham em colaboração. Em termos do modelo americano, tiramos a experiência de que é fundamental manter colaborações duradouras com outros centros de pesquisa, pois a situação econômica atual e a estrutura do país não permite laboratórios com equipes numerosas (dificuldade de novos concursos, de contratações temporárias, etc.).

Outra meta é a manutenção de intercâmbio com os estudantes de outros estados que tiveram formação no Departamento, e que se tornam multiplicadores das pesquisas aqui em desenvolvimento.

Atentos à rápida evolução tecnológica da ciência contemporânea, programamos estágios dos mais novos pesquisadores em instituições estrangeiras. Conscientes do movimento de integração da América Latina, ampliamos nossas cooperações com o Mercosul e outros países da América do Sul.

DEPARTAMENTO DE PROTOZOOLOGIA

CHEFE: *Sylvio Celso Gonçalves da Costa*

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS

CHEFE: *Ana Maria Jansen*

Ana Maria Jansen	Pesquisador Titular
Ana Paula Legey de Siqueira	Pesquisador Visitante/Faperj
Catarina Andrea Chaves de Araujo	Pesquisador Visitante/Faperj
Cristiane Varella Lisboa	Pesquisador Visitante/Faperj
João Carlos Araujo Carreira	Pesquisador Adjunto
Maria Felipe Bravo	Tecnologista

LABORATÓRIO DE IMUNOMODULAÇÃO

CHEFE: *Kátia da Silva Calabrese*

Isabel Cristina da Silva Volpini e Silva	Pesquisador Titular
Kátia da Silva Calabrese	Assistente de Pesquisa
Maria Regina Reis Amendoeira	Pesquisador Titular
Sylvio Celso Gonçalves da Costa	Pesquisador Titular
Wilson Jacintho de Souza	Pesquisador Titular

DEPARTAMENTO DE ULTRA-ESTRUTURA E BIOLOGIA CELULAR

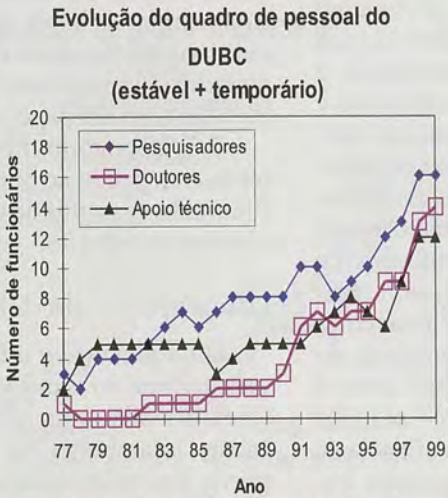
HISTÓRICO

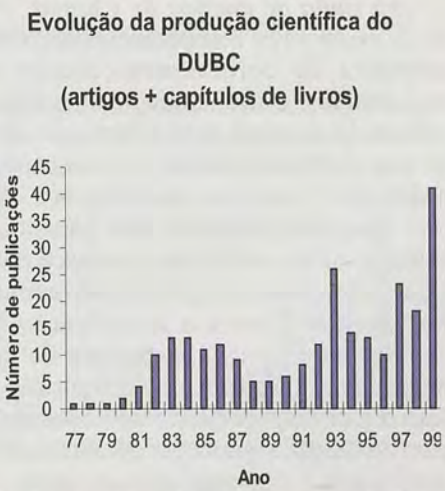
Em 1977, através de cooperação técnico-científica com o governo alemão, o Centro de Microscopia Eletrônica (CME) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), origem do atual Departamento, foi totalmente equipado. Seu primeiro quadro de pesquisadores reunia quatro cientistas alemães, liderados por Heinz Mühlpfordt, a brasileira Ortrud Monika Barth Schatzmayr, três biólogos, Helene S. Barbosa, Suzana Corte-Real Faria e Maurilio Soares, e quatro técnicos que se especializaram em microscopia eletrônica e protozoologia. Adotou-se inicialmente a filosofia de prestação de serviços técnicos a todo o IOC, em paralelo à pesquisa sobre ultra-estrutura de *Trypanosoma cruzi* e outros protozoários. À equipe integrou-se, em 1979, Gabriel Grimaldi Jr, que implementou uma linha de pesquisa em patologia experimental das leishmanioses. Em 1983, Maria de Nazareth Meirelles retornou ao CME, após a realização de cursos de mestrado e doutorado, e obteve a contratação de Tania Cremonini de Araújo-Jorge. Ambas tinham experiência em cultura de células de mamíferos e interação parasito-célula. Junto com Helene S. Barbosa e Suzana Faria impulsionaram a linha de interação parasito-hospedeiro.

Em 1985, o CME se tornou Departamento, assumindo seu papel principal como produtor de conhecimento nessa área, associando, sistematicamente, a prestação de serviços de análise de amostras em microscopia eletrônica à formação de recursos humanos para esse trabalho.

Os principais equipamentos do Departamento, além de operarem na fronteira tecnológica de sua área, têm funcionamento multiusuário, pois são utilizados por cientistas de outros laboratórios do IOC e de outras instituições científicas do Rio de Janeiro e de outros estados. São eles: dois microscópios eletrônicos de transmissão (Zeiss EM10C e analítico Zeiss CEM902), um microscópio eletrônico de varredura (Zeiss DSM 940), dois fotomicroscópios ópticos (Zeiss: AXIOPLAN/campo claro, fluorescência, contrastes de fase e interferencial e AXIOVERT/invertido, com sistema completo de vídeo-microscopia e processamento de imagem), e um citômetro de fluxo Becton Dickinson FACScalibur para quatro cores.

De 1980 a 1999 foi implementada uma agressiva política de captação e formação de recursos humanos (gráficos) e de recursos financeiros extraorçamentários, já num quadro de contenção de despesas, contratação e orçamento. O número de doutores cresceu de um em 1997 para os atuais catorze, apesar da perda de quatro no período. De 1984 a 1987 foram incorporadas três novas pesquisadoras. Dez anos se passaram até haver a possibilidade de incorporação de mais dois doutores. O Departamento recebeu dois recém-doutores por períodos de dois anos e sete outros compuseram ou compõem o quadro por convênios com a Uerj, a UFF, a Faperj, o Centro Federal de Educação Tecnológica de Química (Cefeteq-RJ) e o CNPq. Todos são especialistas





Evolução do quadro de pessoal e da produção científica do Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular (DUBC)

em biologia celular e em microscopia eletrônica de ponta, e cada qual orienta de dois a cinco alunos de mestrado e doutorado, e de um a dois alunos de iniciação científica. Mestres e doutores formados no Departamento já foram recrutados por concurso para a UFF, a UFRJ, o Cefeteq, o IOC, o CPqAM, entre outros.

A produção científica regular é de mais de dez artigos por ano. As linhas de investigação se ampliaram para dez (regulares e independentes) e são executadas por um quadro de pessoal de 66 pessoas (em 1999), entre servidores estáveis ou temporários e estudantes, sendo 46 componentes das equipes de trabalho dos seus três laboratórios e vinte em atividades de apoio. A produtividade científica do Departamento, de 1980 a 1999, contabiliza mais de 200 artigos publicados e 50 projetos aprovados.

O Departamento tem ampla participação no ensino do IOC. Além das teses em curso (21 em 1999), estão em processo de formação científica onze estudantes de graduação como bolsistas de iniciação científica do CNPq (Pibic e projetos integrados). Tem também dois Cursos Técnicos Profissionalizantes registrados na Capes, um de Microscopia Eletrônica e outro de Cultura de Células. O Departamento ministra a disciplina de Microscopia Eletrônica para o Curso Técnico em Biologia Parasitária do IOC, e ainda catorze outras do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* do IOC. No Departamento, o binômio pesquisa/ensino se desenvolve em sua plenitude. Para 2000 as disciplinas estão sendo reestruturadas de modo que o Departamento possa participar da oferta de cursos de pós-graduação *lato sensu* em microscopia, em citometria de fluxo e em popularização e educação em biologia.

O Departamento teve resultado de destaque em diferentes linhas de estudo. Os principais são:

Na linha de doença de Chagas e de biologia do T. cruzi – 1) a competência brasileira em cultura primária de células musculares cardíacas e esqueléticas, e de hepatócitos: o Departamento é referência nacional para a formação de pessoal nessa área da biotecnologia; 2) o mecanismo de penetração do *T. cruzi* em macrófagos e células cardíacas: fagocitose induzida pelo parasita, envolvendo cálcio e várias moléculas ligantes e receptores; 3) a caracterização de um glicolipídeo comum ao *T. cruzi* e a cardiomiócitos e a identificação de moléculas comuns ao *T. cruzi* e a resposta de fase aguda do hospedeiro; 4) o processo de nutrição do *T. cruzi* e suas organelas especiais: reservosomos; 5) o própolis com atividade tripanocida potencial; 6) a eficácia de derivados 3-aminopropenos como agentes tripanocidas; 7) a existência de marcadores sorológicos que permitem acompanhar a evolução da fase aguda da doença de Chagas em pessoas e em animais: anticorpos antigalactose e proteínas de fase aguda; 8) a existência de marcadores de inflamação e de lesão cardíaca no sangue de pacientes e animais infectados que podem ser usados para acompanhar a evolução da fase crônica da doença de Chagas; 9) alterações no sistema imune de animais infectados com *T. cruzi* e tratados com benznidazol, indicativas da necessidade de precauções e rigoroso acompanhamento na prescrição do tratamento; 10) o papel dos sistemas de citotoxicidade celular na resistência à infecção por *T. cruzi* e ao desenvolvimento de miocardite: perforina e Fas.

Na linha de outras protozooses e doenças infecciosas – 1) ciclos intracelulares acessórios para *Leishmania*: fibroblastos como hospedeiros; 2) a introdução de culturas de músculo esquelético como modelo de estudo da toxoplasmose nas fases aguda e crônica da doença.

Na linha de biocorrosão: parceria com a Petrobras – 1) o processo de formação de biofilmes bacterianos envolvidos em biocorrosão de poços e linhas de transmissão de petróleo da Petrobras; 2) a possibilidade de identificação de bactérias redutoras de sulfato por métodos eletroquímicos, que aceleram e barateiam sua detecção em campos de petróleo, com patente concedida em 1998, Fiocruz/Petrobras.

Na linha de educação em ciência: parceria com a Cefeteq-RJ – 1) a constatação de que cientistas podem participar de processos educativos e de divulgação científica com grande impacto junto à sociedade: participação intensa na construção de museus de ciência Espaço Ciência Viva e Museu da Vida; premiação de projeto na 4a. mostra da USP "Desafios para o Ensino de Ciências no século XXI"; 2) a comprovação de que a participação de jovens cientistas em atividades de divulgação e popularização científica forma profissionais conscientes e comprometidos com um papel ativo na sociedade.

Três laboratórios funcionam no Departamento de modo independente porém intimamente integrados. Eles serão descritos na ordem cronológica de aparecimento e evolução.

Laboratório de Ultra-estrutura Celular

O Laboratório e o Departamento têm uma origem comum no acordo de cooperação técnico-científica firmado entra a Fiocruz e o Bernhard-Nocht Institut (Hamburgo, RF Alemanha, 1977-1980) que previa um intercâmbio científico e a criação de um Centro de Microscopia Eletrônica (CME). Em 13 de agosto de 1976, após seleção entre cem candidatos,

foram nomeados 25 auxiliares de pesquisa no IOC e entre eles os estagiários graduados Helene Santos Barbosa, Suzana Corte-Real Faria, Solange Lisboa de Castro e Maria de Nazareth Leal de Meirelles. Helene e Suzana integraram-se ao récem-criado CME, juntamente com Ortrud Monika Barth Schatzmayr. Nele foram treinados quatro técnicos em técnicas de parasitologia e de microscopia eletrônica e eram mantidas culturas de diferentes tripanossomatídeos em meio acelular e em animais experimentais. Em 1997, Maurilio José Soares, através do treinamento avançado em serviço, foi incorporado ao CME.

Nesse período Maria de Nazareth realizou seu mestrado trabalhando na linha de cultivos primários de células musculares cardíacas infectadas pelo *T. cruzi*, com metodologias de imunocitoquímica e microscopia eletrônica. Em seguida, realizou seu doutorado. De volta ao IOC, integrou-se ao CME que, após o término do convênio, foi chefiado sucessivamente por Maria Deane, Gabriel Grimaldi e Maria de Nazareth que, em 1983, teve dois projetos aprovados com recursos extraorçamentários e iniciou a montagem da infra-estrutura necessária ao desenvolvimento de uma linha de cultivos primários de células de camundongo.

Em 1983, Tania Cremonini de Araujo-Jorge terminou seu mestrado, iniciou seu doutorado e integrou-se ao CME, contribuindo junto com as demais pesquisadoras para a consolidação das pesquisas com os parasitas *T. cruzi* e *Leishmania* e de sua interação com células musculares cardíacas e esqueléticas, fibroblastos e macrófagos, com abordagens de análise de fenômenos iniciais da interação, do reconhecimento celular, do estudo detalhado da superfície das duas células e do destino intracelular dos parasitas.

Devido à complexidade das atividades que então se desenvolviam, o CME, além da prestação de serviços à comunidade, também desenvolvia projetos próprios nas áreas de ultra-estrutura e de biologia celular, recebendo apoio financeiro de agências de fomento à pesquisa. O Centro então estruturou-se como um Laboratório com linhas de pesquisa definidas e, por um ato do presidente da Fiocruz, passou a constituir o Departamento, com um único Laboratório, no dia 19 de março de 1985. Por votação direta dos membros do Departamento e indicação confirmada pelo Conselho de Orientação do IOC, foi eleita chefe Maria de Nazareth. A este tempo, Solange Lisboa de Castro desenvolvia seus estudos de doutoramento e integrou-se ao Laboratório contribuindo com sua formação em bioquímica para as pesquisas que ali se realizavam.

Projetos aprovados pela Finep, CNPq-Pide VI e Faperj deram suporte às pesquisas que se desenvolviam e permitiram ampliar a colaboração com outros departamentos do IOC como Patologia, Virologia, Bacteriologia, Imunologia, Bioquímica e Biologia Molecular e Protozoologia, configurando um Laboratório aberto à colaboração com outros grupos de pesquisa e com uma definida rede de usuários dos seus equipamentos (Cenpes-Petrobras, UFRJ, Ucrj, PUC, USP, UFF, UFP e Jardim Botânico). Através do convênio PSME-Finep (Programa Setorial de Microscopia Eletrônica 1988-1992) o Laboratório recebeu, em 1990, um microscópio eletrônico analítico Carl Zeiss CEM 902, que permitiu a aplicação de novas metodologias nos estudos de biologia celular e molecular, como a análise e imagem espectroscópica, que está em pleno uso no Laboratório e aberto a toda a comunidade científica nacional.

Os vários trabalhos científicos publicados em revistas indexadas atestam a importância dessa nova metodologia em estudos de reconhecimento celular, da ionogenicidade e do citoesqueleto das células hospedeiras na sua interação com os parasitas. Este convênio também permitiu a compra de equipamentos de menor porte, como metalizador e ponto crítico – necessários em etapas do processamento dos espécimens biológicos para a microscopia eletrônica.

Os pesquisadores do Laboratório, atuais doutores e mestres, investiram na complementação de sua formação curricular. Helene Santos Barbosa desenvolve estudos de mecanismos envolvidos na invasão do *T. cruzi* no músculo cardíaco e de interação na área de toxoplasmose, investigando a biologia do *T. gondii* em músculo esquelético; Suzana Corte-Real Faria desenvolve uma linha de cultivos de fibroblastos obtidos da dissociação da derme e dos músculos cardíacos e esqueléticos de camundongos para estudos de interação *Leishmania*-fibroblastos; Mirian Claudia Pereira investiga a regulação e localização dos RNA mensageiros de isoformas de actina em células musculares; Maria de Nazaré Soeiro desenvolve estudos do reconhecimento celular e ionogenicidade das células musculares; Maria Adelaide do Valle Matta realiza trabalhos com glicoconjugados de membrana; Renato Porrozzi de Almeida se dedica aos estudos do cultivo primário de hepatócitos de embriões de camundongo para estudos de testes de drogas, visando caracterizar a fase exoeritrocitária do *Plasmodium* no hepatócito.

As atividades de pesquisa do Laboratório são conduzidas por um grupo composto hoje por seis pesquisadores, treze estudantes e dez pessoas para apoio técnico, alguns com nível superior e até mesmo mestrado. Nossos estudos de interação *T. cruzi*-célula muscular se desenham dentro dos projetos de incentivo à pesquisa estratégica financiada na Fiocruz pelo Papes (A e B), com estudos imunológicos,

imunocitoquímicos e do citoesqueleto em tecidos humanos chagásicos, em colaboração com a Faculdade de Medicina de Uberaba, e em sistemas *in vitro* de tecidos embrionários humanos, em colaboração com a Maternidade Fernando Magalhães, este em fase muito inicial. Os estudos de interação parasita-célula com *Leishmania, Toxoplasma gondii* e *T. cruzi* são demandas prioritárias dos programas de doenças emergentes e reemergentes do CNPq. Os estudos da fase hepática da malária humana se configuram como uma resposta ao tema pouco estudado nesta doença e que concerne aos estágios exoeritrocitários do *Plasmodium* no homem. Nosso trabalho visa à identificação e caracterização de moléculas envolvidas na invasão e diferenciação do parasita intracelular que possam esclarecer mecanismos de virulência a serem bloqueados. Estudos farmacológicos poderão ser efetivamente estimulados assim como avanços no conhecimento básico e aplicado nas áreas de biologia celular e molecular, parasitologia e imunologia.

Laboratório de Biologia Celular

O Laboratório foi criado em 1990, agregando as linhas de pesquisa conduzidas por Tania Araújo-Jorge e por Solange L. de Castro. Hoje, com 21 pessoas em seu quadro, trabalha três grandes linhas de pesquisas: 1) quimioterapia anti *T. cruzi*; 2) inflamação, citotoxicidade, e imunoterapias na doença de Chagas; 3) divulgação/educação científica em biologia celular.

Atua de modo integrado com os outros dois laboratórios do Departamento na linha de interação parasito-célula e na de biocorrosão causada por bactérias sulfato-redutoras. Em nível instrumental, além das diferentes modalidades de microscopia eletrônica e óptica, o Laboratório tem implantado outras metodologias de uso em biologia celular, tais como a eletroforese, a citometria de fluxo, medidas de proliferação celular pelo uso de traçadores radioativos, diferentes ensaios de ELISA e métodos analíticos eletroquímicos.

No período 1995-1999, o Laboratório publicou 48 artigos e capítulos de livros e organizou um livro, atualmente no prelo. Além de contribuir para a forte produção científica do Departamento, a equipe destacou-se, também, pelo desenvolvimento de outros aspectos. Primeiro, no campo da formação de recursos humanos, a capacidade de organizar cursos nas áreas referentes às suas linhas de pesquisa. Segundo, no campo da captação de recursos para pesquisa e da polarização de cooperações científicas nacionais e internacionais.

Hoje, além das duas pesquisadoras que o iniciaram, o Laboratório tem mais os pesquisadores Vinícius Cotta-de-Almeida, Maria Nazaré Soeiro, Andrea Henriques-Pons e Maria Teresa Rivera que trabalham na linha pesquisa em doença de Chagas experimental. Luiz Edmundo Aguiar desenvolve a linha de educação em ciência.

Os pesquisadores do Laboratório têm publicado revisões gerais em suas áreas de pesquisa e têm sido convidados a participar de bancas de tese e concursos, a ministrar palestras e aulas em congressos e cursos no Rio de Janeiro e em outros estados, além de exercerem forte atividade docente no IOC e em outras instituições. Desde sua criação, o Laboratório já formou cinco doutores e dez mestres, e tem atualmente quatro doutorandos, três mestrandos, três alunos de iniciação científica e cinco técnicos. O Laboratório desenvolve muitas atividades docentes e didáticas, com participação regular nas disciplinas oferecidas pelo Departamento, e com oferta de algumas disciplinas específicas, como doença de Chagas experimental.

Desde junho de 1996 está em operação, no Laboratório, o citômetro de fluxo FACScalibur, equipamento de última geração na época, e de uso coletivo. O Laboratório participou da criação do Programa Integrado de Citometria de Fluxo (PICF), da Fiocruz, com a realização de encontros, cursos internacionais e oficinas de trabalho. As atividades e constituição do PICF, que deverão se desdobrar em Cursos de Aperfeiçoamento e de Especialização (*lato sensu*) em Citometria de Fluxo, podem ser analisadas através do acesso à sua home-page. Além das disciplinas nos campos de Citometria de Fluxo, a disciplina de "Popularização e alfabetização científica", oferecida anualmente, desde 1995, estará integrando novos cursos de pós-graduação *lato sensu* no IOC, com início previsto para o ano 2000.

Laboratório de Biologia Celular de Microrganismos

É o mais jovem Laboratório do Departamento. A partir de 1995, um grupo de pesquisadores e alunos, tendo como interesse comum a ultra-estrutura de microrganismos, basicamente protozoários da família Trypanosomatidae e bactérias redutoras de sulfato, começou a se aglutinar no setor. A criação do Laboratório, em 1998, permitiu a reunião desse grupo, propiciando ambiente físico e intelectual para ampliar o desenvolvimento das linhas de biocorrosão bacteriana e de biologia celular de protozoários, incluindo o estudo da relação com seus hospedeiros invertebrados, aspecto importante mas até então pouco abordado no Departamento.

Esse grupo vem analisando esses organismos à luz dos novos conceitos de biologia celular, investigando, principalmente, aspectos relacionados às vias

endocíticas e secretoras, como a endocitose de nutrientes e a secreção de macromoléculas, embora temas relacionados à interação dos microrganismos com diferentes substratos sejam também relevantes. Neste último aspecto inclui-se, por exemplo, o estudo da adesão de protozoários a substratos inertes e naturais, importantes para o entendimento da relação parasita-hospedeiro, e o estudo da formação de biofilmes bacterianos em processos de corrosão. Como ferramentas essenciais para o desenvolvimento de seus projetos de análise ultra-estrutural o grupo utiliza técnicas básicas e avançadas de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão, equipamentos disponíveis no Departamento.

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Laboratório de Ultra-estrutura Celular

Trypanosoma cruzi-cardiomiócitos: estudo bioquímico, imunológico e ultra-estrutural de moléculas envolvidas nesta interação – A doença de Chagas constitui o quarto problema de saúde mais sério na América Latina e estima-se que 5% dos habitantes (17 milhões de pessoas) estejam infectados. Dados atuais da literatura demonstram que embora o desenvolvimento das lesões crônicas possa ser mediado por mecanismos auto-imunes, a presença do parasito é essencial para o desencadeamento de fenômenos imunopatológicos. Estudamos as bases moleculares da lesão miocárdica, de um modo integrado, ao nível da sua matriz extracelular, superfície e citoesqueleto. Processos tais como redistribuição de receptores, endocitose, adesão e invasão do parasita e interação com células exigem a participação de elementos do citoesqueleto e estão envolvidos com a homeostase do cálcio nestas células. Objetivos: 1) estudar a biologia celular dos cardiomiócitos caracterizando o interstício cardíaco representado por um sistema de componentes diversos de matriz-extracelular (ECM) em cardiomiócitos normais e infectados pelo *T. cruzi*; 2) analisar nesse sistema *in vitro*, as alterações que se observam no momento da invasão celular pelo *T. cruzi*, seguindo o curso do ciclo intracelular do parasita, caracterizando moléculas chaves do processo de invasão, abordando de modo integrado a superfície celular do parasita e do hospedeiro, seu metabolismo, ECM, as características funcionais nos estudos de pH e do fluxo de cálcio intracelular e as organelas de estoque de cálcio no cardiomiócito e no *T. cruzi*.

A linha de pesquisa prevê a obtenção de resultados que contribuam para um melhor entendimento da biologia do coração e da interação cardiomiócito-*T. cruzi*, com o fim de permitir avanços científicos no campo da pesquisa básica e com aplicações para a área de cardiologia e imunoparasitologia. A compreensão das bases celulares e moleculares dos mecanismos da lesão miocárdica na gênese dessas alterações poderá auxiliar na proposição de novas abordagens terapêuticas e de prevenção da doença humana. Dentro da pesquisa científica brasileira, o projeto trará contribuições metodológicas modernas e de ponta, como o uso de criocortes em nível de microscopia eletrônica, a microscopia confocal a laser e microfluorometria nos estudos da homeostase do cálcio, pela microscopia eletrônica, através da caracterização elemental de estruturas celulares com microscópio eletrônico analítico (CEM-902).

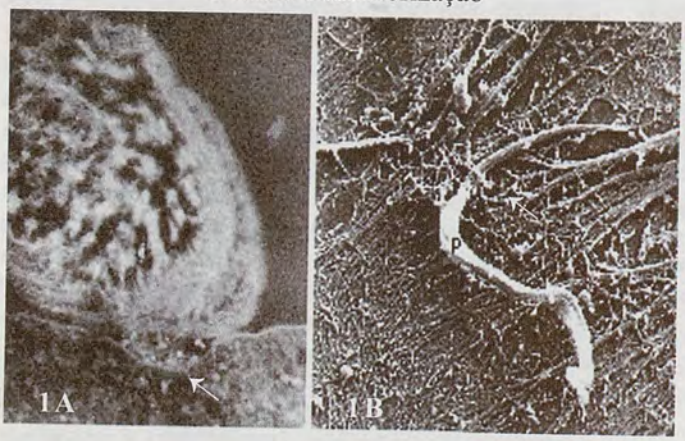
Estudo de componentes de matriz extracelular, receptores de superfície (integrinas) e proteínas do citoesqueleto na interação Trypanosoma cruzi-cardiomiócito in vitro – A capacidade de alguns patógenos de invadir tecidos de hospedeiros depende de mecanismos complexos incluindo interação receptor-ligante. Esse processo de reconhecimento e adesão pode ser mediado pela interação com açúcares e/ou proteínas de superfície. Fibronectina, uma glicoproteína constituinte da matriz extracelular, parece modular a infecção de diferentes patógenos, sendo importante em certas doenças parasitárias. Essa proteína interage com receptores da superfície celular (integrinas) e proteínas do citoesqueleto, promovendo adesão, migração e proliferação requerida para o desenvolvimento e reparo de tecidos.

O *T. cruzi* apresenta um receptor para a seqüência RGD de fibronectina (Arg-Gly-Asp) e um sítio de ligação para colágeno envolvido na interação parasito-célula hospedeira. Sendo o tecido cardíaco altamente afetado pela infecção com *T. cruzi* levando à fibrose tecidual e ao comprometimento funcional desse órgão na doença de Chagas, o estudo da interação *T. cruzi*-cardiomiócito *in vitro* contribui para a detecção de moléculas envolvidas nesse processo e um melhor entendimento da doença. Objetivo: investigar a participação de proteínas de matriz extracelular, integrinas e proteínas do citoesqueleto na invasão do parasita, a expressão e localização intracelular de seus RNA mensageiros durante o processo de diferenciação intracelular e detecção de moléculas importantes no reconhecimento parasita-célula.

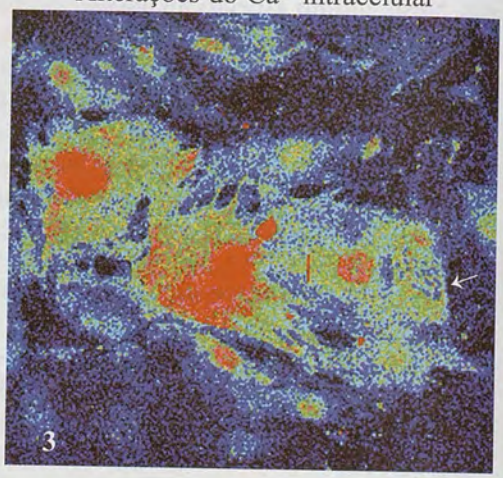
Interação do Toxoplasma gondii com células musculares esqueléticas, in vitro – A toxoplasmose, segundo a OMS, é a enfermidade infecciosa mais difundida no mundo entre as doenças transmissíveis. A principal via de disseminação é através da ingestão

Avanços no conhecimento da interação *Trypanosoma cruzi*-cardiomiócitos

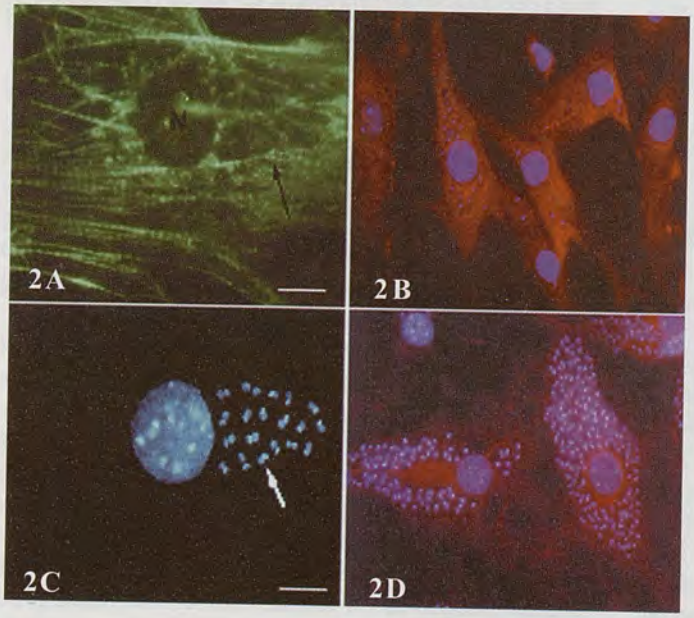
Invasão e interiorização



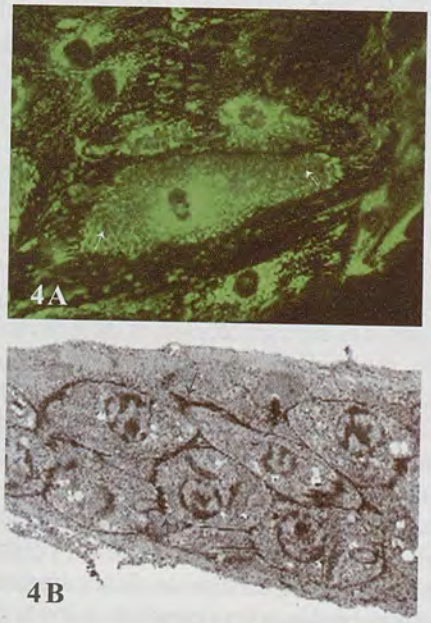
Alterações do Ca^{2+} intracelular



Citoesqueleto e regulação de mRNA



Associação *T. cruzi*-Retículo Sarcoplasmático (RS)



Durante a fase de adesão *T. cruzi*-cardiomiócito ocorre a mobilização de moléculas da superfície da célula hospedeira, p. ex., resíduos de galactose (Fig. 1A, seta). O processo de interiorização do parasita envolve a participação de elementos do citoesqueleto do cardiomiócito (Fig. 1B, seta), seguida da destruição da citoarquitetura cardíaca, principalmente miofibrilas (Fig. 2A), na fase multiplicativa intracelular (Fig. 2C). Esta alteração afeta a localização intracelular de RNAm de beta-actina (Figs. 2B, 2D) e a regulação de RNAm de isoformas de actina. Mudanças na homeostase do cálcio intracelular ocorrem durante o processo de invasão e no decorrer da infecção. Células infectadas apresentam diminuição nos níveis de cálcio nas regiões onde se localizam os ninhos de parasitas (Fig. 3, seta). O parasita apresenta forte associação com o retículo-sarcoplasmático do cardiomiócito sugerindo troca de íons e moléculas necessárias ao seu metabolismo e diferenciação celular. O retículo, revelado pela enzima glicose-6 fosfatase (Fig. 4B) circunda parasitas intracelulares, cujo crescimento foi afetado pela depleção de estoques de cálcio intracelular do retículo pelo tratamento com tapsigargina (Figs. 4A, 4B).

de carne contaminada, variando a prevalência da doença de acordo com os hábitos alimentares regionais e nacionais. As estatísticas chegam a apontar que cerca de 92% da população da Europa apresentam positividade para toxoplasmose. Na última década, a toxoplasmose tem emergido como uma infecção oportunista comum em pacientes soropositivos para o vírus HIV e, assim, despertado o interesse de vários grupos no entendimento da biologia do *T. gondii*.

A introdução da linha de pesquisa da interação do *T. gondii* e células musculares esqueléticas, como modelo de estudo da toxoplasmose, se iniciou há dois anos, contando com o apoio financeiro do CNPq, como projeto integrado, e da Faperj. Apesar do envolvimento da musculatura esquelética durante a fase crônica da doença e sua importância clínica em indivíduos imunocomprometidos com a infecção pelo vírus HIV, pouca atenção tem sido dada a esse modelo celular. Objetivos: estudar os mecanismos de encistamento do *T. gondii* em células musculares esqueléticas, as possíveis moléculas envolvidas nesta interação, os mecanismos de invasão celular, a biogênese do vacúolo parasitóforo em células não fagocíticas profissionais e testar a ação de drogas contra as formas císticas tissulares.

O ciclo exoeritrocítico de plasmódios: um estudo in vitro dos processos de invasão e multiplicação dos parasitas da malária — A malária é considerada uma das mais importantes endemias dentre as doenças infecciosas e parasitárias que acometem a espécie humana em regiões tropicais. No Brasil, cerca de 70% dos casos de malária registrados são causados por *P. vivax*, espécie que produz recaídas, relacionadas a formas hipnozoitas no fígado do hospedeiro humano. Portanto, o tratamento radical requer esquizonticidas sangüíneos e teciduais efetivos. Para o tratamento do ciclo tecidual da malária existe apenas uma droga, a primaquina; mas a cada ano o número de casos produzidos por cepas de parasitas resistentes a esse medicamento parece aumentar, exigindo um tratamento prolongado ou o uso de doses maiores. Antes do aparecimento de cepas realmente resistentes é importante que se desenvolvam novas drogas e/ou vacinas. As vacinas em desenvolvimento não demostraram ser suficientes para impedir o avanço da endemia no mundo, muito embora avanços consideráveis tenham sido feitos. Parte do problema deve-se à falta de modelos experimentais e à dificuldade de cultivos deste parasita, principalmente no que se refere à fase hepática ou tecidual dos plasmódios. Embora esta fase tenha sido descoberta há mais de cinqüenta anos, é aquela de que se tem conhecimentos mais fragmentados.

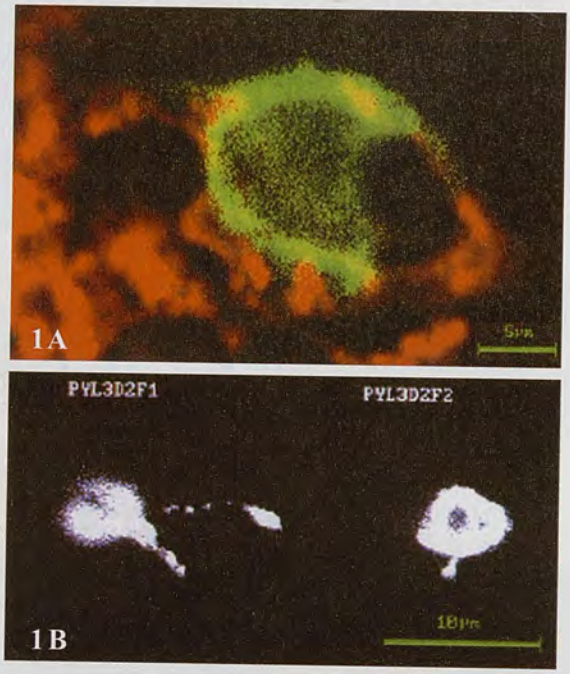
A pesquisa se propõe a estudar a invasão do esporozoita de plasmódios na célula hospedeira e o seu desenvolvimento *in vitro*. Para tal, numa primeira fase, usaremos um modelo de malária aviária onde fibroblastos de embriões de galinha serão as células alvo de esporozoitas de *P. gallinaceum*. Isto se deve principalmente ao fato de que os mosquitos que se infectam com esta espécie de parasitas, e que nos permitem produzir esporozoitas, são do gênero *Aedes*, que podem ser facilmente colonizados. Esse modelo foi um dos primeiros para o estudo da fase exoeritrocítica da malária. Recentemente foi mostrado que esses parasitas são filogeneticamente mais próximos de *P. falciparum* que as outras espécies de plasmódios humanos e de roedores. Portanto, trata-se de um modelo adequado para o estudo em questão onde mecanismos imunológicos específicos não estão envolvidos, e por se tratar de um modelo de mais fácil manipulação. Numa segunda etapa, que consiste o nosso objetivo principal, será desenvolvido um modelo *in vitro* para o cultivo de *P. vivax* em células de linhagem de origem hepática, HEP G2, e em cultivo primário de hepatócitos humanos, culturas essas estabelecidas em nosso Laboratório. Objetivos: 1) estudar o processo de invasão e desenvolvimento de esporozoítas de *Plasmodium* sp. em suas células alvo; 2) localizar moléculas e compartimentos intracelulares que possam servir de alvo para uma intervenção imunológica ou quimioterápica; 3) montar um modelo que sirva para triagem de novas drogas tissulares para *P. vivax* utilizando culturas de formas exoeritrocítica de *P. gallinaceum* e *P. vivax*.

Estudo de moléculas envolvidas na interação Leishmania-célula hospedeira — Nas últimas décadas, a incidência de leishmaniose tem aumentado em todo o mundo, especialmente em países subdesenvolvidos e de clima quente, configurando um problema de saúde pública. O tratamento da doença, o controle do vetor e as tentativas de se obter uma vacina que dê completa proteção em relação a todas as espécies de *Leishmania* têm sido arduamente trabalhados em várias linhas de pesquisa. O conhecimento a respeito do mecanismo de defesa do hospedeiro tem sido ampliado com os estudos de células envolvidas nas primeiras horas de infecção e dos macrófagos, que mantêm as formas amastigotas, dando assim continuidade à lesão.

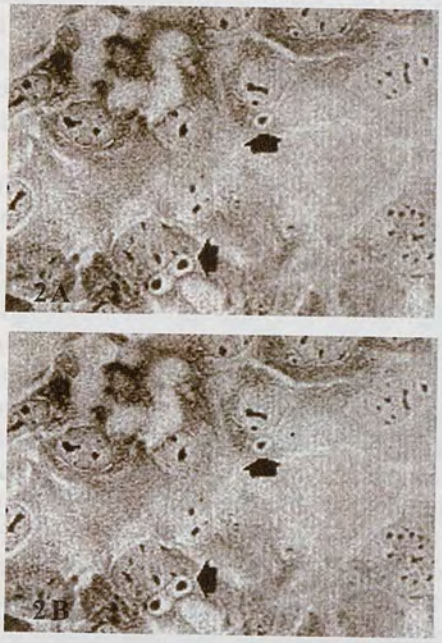
O principal modelo celular empregado nos estudos *in vitro* da interação *Leishmania*-célula hospedeira tem sido células fagocíticas profissionais, como os macrófagos. Todavia, estudos recentes *in vitro* e *in vivo* têm mostrado fibroblastos infectados por formas promastigotas. O estudo de moléculas de superfície, tanto de macrófagos e fibroblastos como dos parasitas, tem apontado para a presença de recepto-

Culturas celulares como modelo de estudo da interação parasita-célula hospedeira

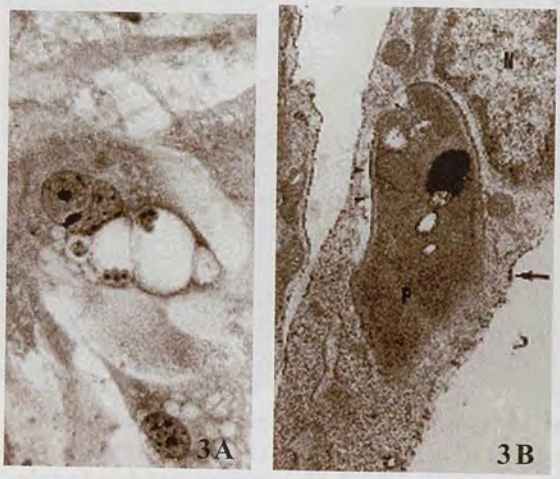
Interação *Plasmodium yoelii*-hepatócito



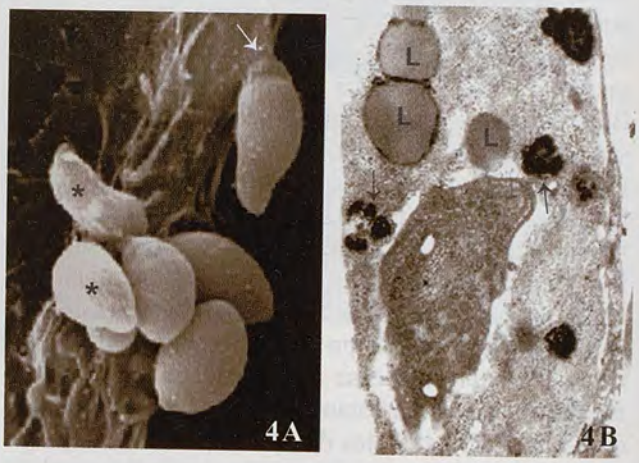
Interação *Trypanosoma cruzi*-hepatócitos



Interação *Leishmania amazonensis*-fibroblasto



Interação *Toxoplasma gondii*-músculo esquelético



Desenvolvimento de formas exoeritrocíticas de *P. yoelii* de hepatócitos visualizadas por microscopia confocal. A marcação fluorescente de antígenos do parasita revela projeções da membrana do vacúolo parasitóforo para o citoplasma da célula hospedeira (Figs. 1A, 1B). O ciclo do *T. cruzi* pode ocorrer em células polarizadas como os hepatócitos. Com 24 h de interação várias células encontraram-se infectadas (Fig. 2A, setas) e com 72 h ninhos de parasitas podem ser visualizados (Fig. 2B, seta). Fibroblastos de pele de camundongos infectados com formas amastigotas de *L. amazonensis*. Fig. 3A: amastigotas aderidas à membrana de vacúolos parasitóforos dilatados de fibroblasto de pele. Esta característica vacuolar é similar à encontrada em macrófagos infectados com o mesmo parasita. Fig. 3B: a atividade da enzima Ca^{++} ATPase localizada durante a interação tanto na membrana plasmática do fibroblasto como na membrana plasmática de *L. amazonensis* intravacuolar. Aspectos da invasão do *T. gondii* em células musculares esqueléticas [penetração ativa (*) e endocitose, seta] (Fig. 4A). Associação de inclusões lipídicas (L) com o vacúolo parasitóforo e ausência de fusão fagolissosomal (Fig. 4B, setas).

res e ligantes que participam nos eventos de reconhecimento celular e interação parasita-célula. A possibilidade de se estudar o envolvimento de receptores de superfície de fibroblastos de pele em animais infectados por *Leishmania* é pioneira e abre perspectivas de se investigar o papel de fibroblastos como as primeiras células do hospedeiro a entrarem em contato com o parasita, podendo levar ao entendimento de como o parasita escapa do sistema imune. Objetivos: 1) analisar a expressão de carboidratos de superfície dos fibroblastos durante a interação com formas promastigotas de *L. amazonensis*; 2) caracterizar receptores e ligantes durante a interação do parasita com a célula hospedeira; 3) investigar a produção de óxido nítrico por culturas de fibroblastos infectadas com formas promastigotas.

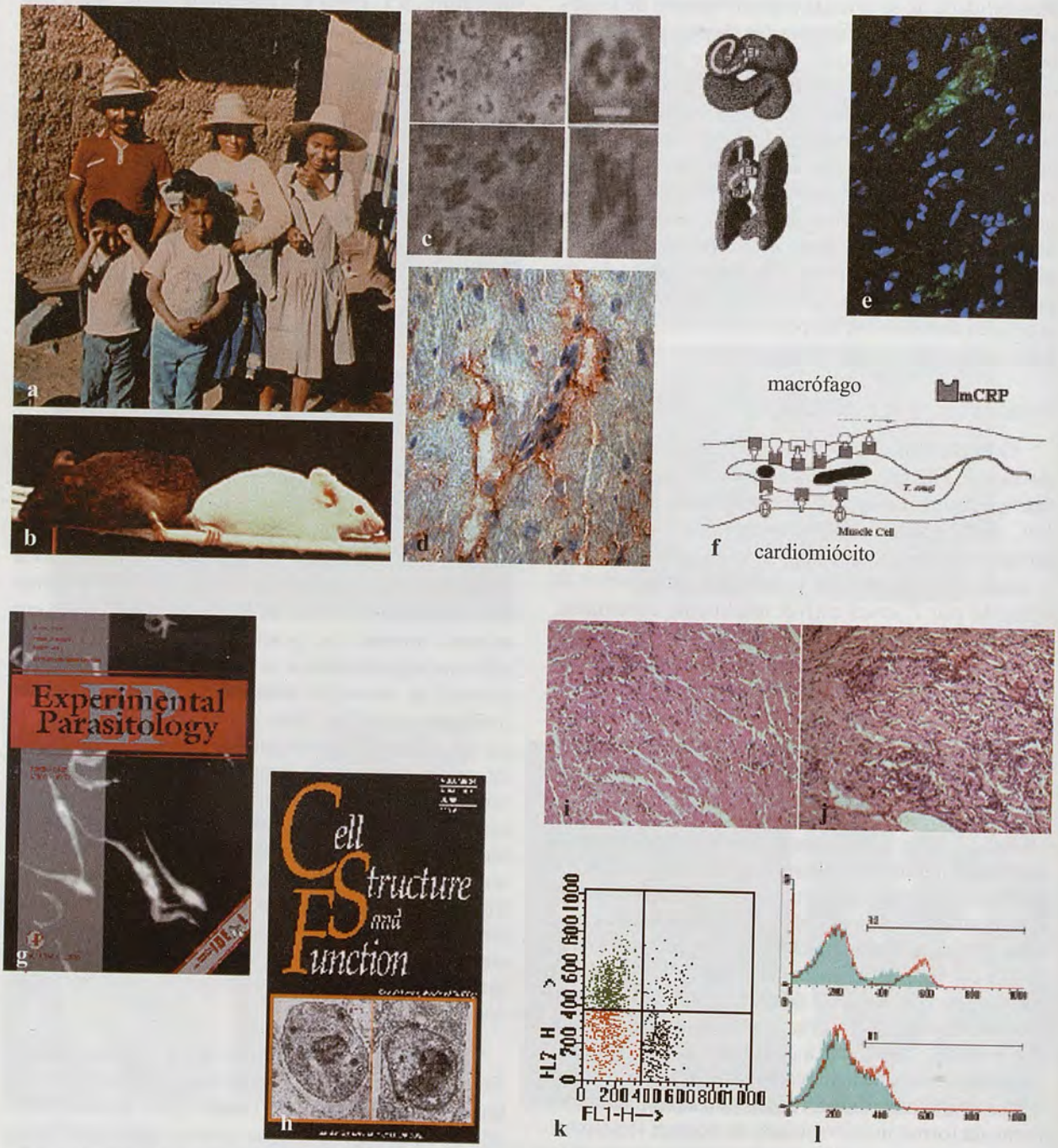
Laboratório de Biologia Celular

O Laboratório tem forte produção científica em doença de Chagas humana e experimental, uma das doenças parasitárias que tem merecido atenção do IOC desde a sua fundação. A quimioterapia experimental da doença de Chagas, área estratégica para a saúde do país quando a transmissão vetorial da infecção por *T. cruzi* estiver totalmente controlada, tem recebido grande parte de nossos esforços, tanto em ensaios *in vitro* de novos compostos, como na busca de um modelo *in vivo* para miocardite crônica, no qual se possa testar novas abordagens terapêuticas. O Laboratório tem as seguintes pesquisas em andamento:

Inflamação e citotoxicidade na doença de Chagas – Essa linha agrega cinco pesquisadores e quatro estudantes trabalhando sobre doença de Chagas humana e experimental. É nessa linha que temos também o maior número de colaborações com laboratórios no país e no exterior. Objetivos: *no campo da doença de Chagas humana* – 1) estudo de componetes da resposta de fase aguda, em crianças recém-infectadas em áreas endêmicas da Bolívia, que possam identificar a evolução da fase aguda, e eventualmente como marcadores de prognóstico para a fase crônica; e 2) diferenças entre pacientes crônicos da forma indeterminada da doença (totalmente assintomáticos) e da forma cardíaca (com diferentes graus de evolução da cardiopatia chagásica crônica) que possam explicar porque alguns pacientes evoluem para a doença grave enquanto outros passam toda a vida vivendo em saudável equilíbrio com o parasita: análises de oligoelementos (selênio e iodo) e enzimas deles dependentes (glutationa peroxidase, por exemplo), de citocinas envolvidas com hiper-reatividade e com sua modulação (interferon-gama e TGF-beta), e de moléculas citotóxicas (óxido nítrico), bem como do repertório de anticorpos naturais presente nos soros de pacientes chagásicos crônicos assintomáticos e cardiopatas, reativos a miocárdio, a *T. cruzi* e a antígenos bacterianos não relacionados; *no campo da doença de Chagas experimental* – 1) o papel de diferentes mecanismos citotóxicos na fisiopatologia da miocardite aguda experimental causada por *T. cruzi* e os fatores que influenciam na resistência natural à infecção por *T. cruzi* (influência de anticorpos naturais, de proteínas de fase aguda, de hormônios sexuais, de produtos naturais e de estimulação antigênica via oral), analisando o curso da miocardite em animais geneticamente deficientes ou não nos sistemas de citotoxicidade por perforina ou por Fas, e sob ação de inibidores da produção de oxido nítrico; o efeito citotóxico de linfócitos e macrófagos de animais infectados sobre miócitos normais e infectados; o processo de interação entre linfócitos T e cardiomiócitos após infecção pelo *T. cruzi*; a participação de moléculas de adesão nesse processo e frente a citocinas e proteínas de fase aguda; e o possível envolvimento de células T imaturas na miocardite; 2) o papel de citocinas e proteínas de fase aguda na fisiopatologia da miocardite aguda, analisando a interação entre estas moléculas nos focos tissulares de inflamação; o curso da infecção por *T. cruzi* em animais normais ou geneticamente deficientes em alfa-macroglobulinas e o efeito do plasma desses animais na interação parasito-célula; e o papel da interação com TGF-beta para a gênese da fibrose característica da cardiopatia chagásica; 3) o efeito de quimioterapias e imunoterapias no curso da miocardite chagásica experimental, avaliando o desenvolvimento da miocardite crônica em diferentes modelos com camundongos, e submetendo-os à quimioterapia com benznidazol e outros agentes tripanocidas em fase de desenvolvimento, testando também o possível efeito da terapia de injeção de anticorpos naturais conhecida como IV Ig, e o ensaio de terapias de base nutricional para reposição de oligoelementos.

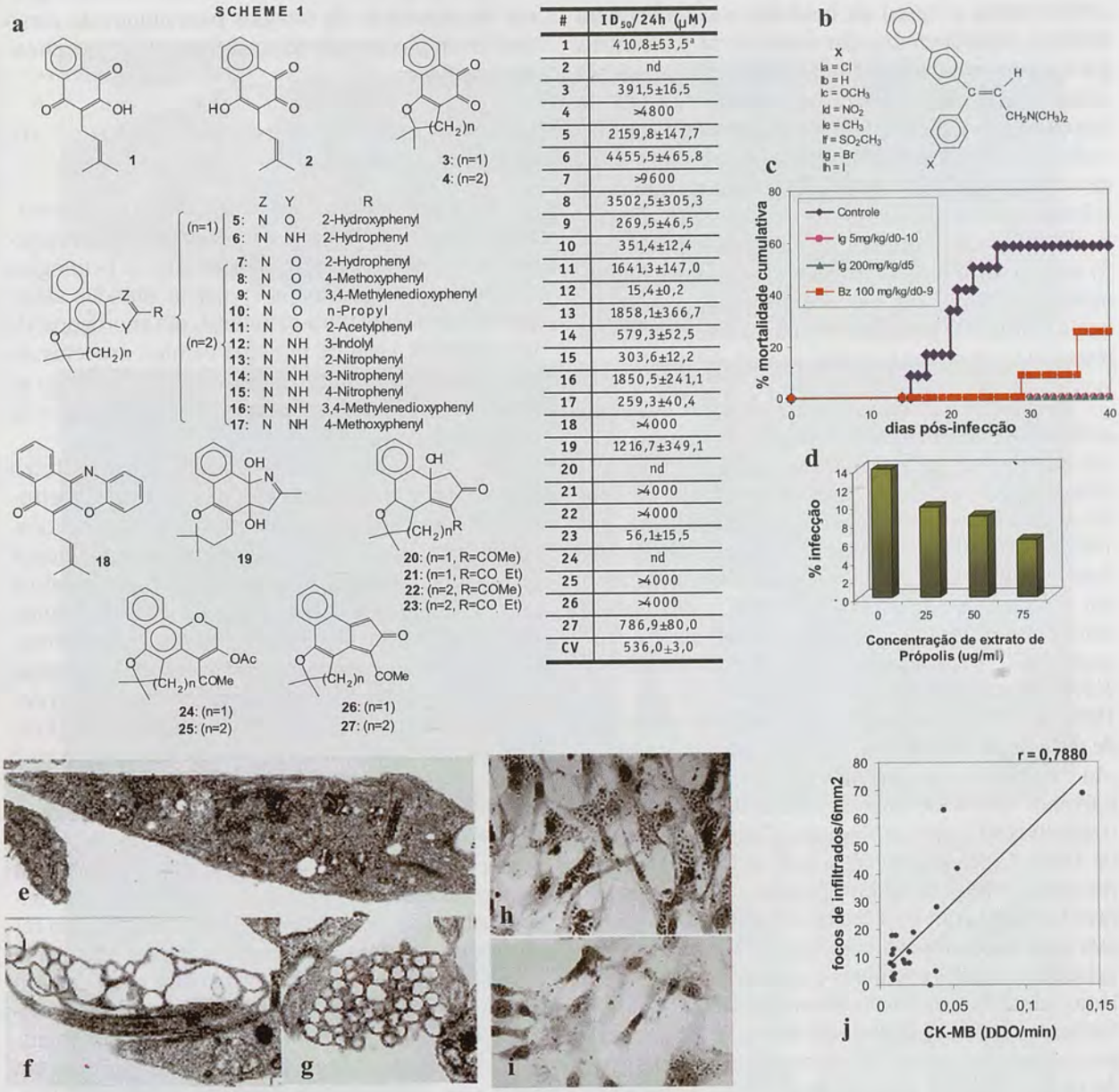
Estudos in vitro e in vivo de drogas contra Trypanosoma cruzi – Esta linha tem por objetivo a busca de novas drogas visando tanto o tratamento clínico da doença de Chagas como a quimioprofilaxia de sangue. Em estudos *in vitro* são testados diferentes compostos sobre o parasita e investigados os mecanismos de ação daqueles mais ativos. Existe uma grande integração com diferentes grupos de síntese destes compostos. Quando da síntese de uma série de compostos com diferentes substituintes, realizamos também estudos de correlação estrutura/atividade. Na área específica de própolis temos também uma grande integração com diferentes grupos nacionais e internacionais.

Inflamação e citotoxicidade na doença de Chagas



Há fortes indicações de que a resistência à doença de Chagas seja definida bem no início da relação parasita-hospedeiro. Estudamos a resposta inflamatória de fase aguda, em crianças bolivianas (a) e em animais experimentais (b), e identificamos marcadores plasmáticos da evolução desta fase. Estudamos a proteína alfa-2-macroglobulina (mostrada ao microscópio eletrônico em c); vimos que aumenta no plasma e nos tecidos (d), se ligando aos parasitas (e) e contribuindo para a resistência. Detectamos também que o tripanossoma apresenta uma proteína em sua superfície que é muito semelhante a uma outra proteína de fase aguda humana, a CRP (f). Alguns de nossos resultados foram escolhidos para ser capa de revistas internacionais, como a *Experimental Parasitology* em 1998 (g) e a *Cell Structure and Function* em 1999 (h). Com animais geneticamente modificados verificamos que funções executadas por perforina contribuem para o controle da reação inflamatória, que é mais intensa em camundongos deficientes nessa molécula (j) do que em seus controles normais (i). A Citometria de Fluxo (k-l) tem sido uma importante ferramenta para estudar a imuno-biologia destes modelos experimentais.

Estudos de drogas anti *Trypanosoma cruzi*



#	ID_{50}/24h (μM)
1	410,8±53,5[a]
2	nd
3	391,5±16,5
4	>4800
5	2159,8±147,7
6	4455,5±465,8
7	>9600
8	3502,5±305,3
9	269,5±46,5
10	351,4±12,4
11	1641,3±147,0
12	15,4±0,2
13	1858,1±366,7
14	579,3±52,5
15	303,6±12,2
16	1850,5±241,1
17	259,3±40,4
18	>4000
19	1216,7±349,1
20	nd
21	>4000
22	>4000
23	56,1±15,5
24	nd
25	>4000
26	>4000
27	786,9±80,0
CV	536,0±3,0

A atividade tripanocida de diversos grupos de drogas vem sendo testada em modelos *in vitro* e *in vivo*. Isso ocorre com a colaboração de grupos de química sintética, para correlacionar estrutura e atividade de diferentes compostos, como derivados de quinonas naturais (a), 3-aminopropenos (b, c), própolis (d) e alquil-lisofosfolipídeos (e, f, g). Curvas de mortalidade de camundongos infectados (c) podem demonstrar claramente se a nova droga em estudo apresenta atividade melhor do que o benznidazol (Bz), único medicamento disponível no Brasil para o tratamento da doença de Chagas, e ainda insatisfatório por sua toxicidade e sua ineficácia em cerca de 20% dos pacientes chagásicos. O tratamento de culturas de cardiomiócitos *in vitro* também evidencia o efeito do composto, como para própolis (em d), estudado sempre comparativamente ao Bz. Análises em microscopia eletrônica ou óptica possibilitam evidenciar os danos causados, a fim de verificar como atua a droga sobre o parasita (f, g) e sobre a célula infectada (i), como exemplificado nas fotos pelo tratamento com edelfosina (f, g, i), comparados com controles não tratados (e, h). A avaliação da resposta imune e da lise de cardiomiócitos nos animais infectados, tratados ou não, tem evidenciado novos parâmetros, tais como a enzima creatino-quinase específica do coração (CK-MB) cujos níveis se elevam no plasma em correlação direta com a presença de focos inflamatórios (j).

Em relação a estudos *in vivo*, além do ensaio de drogas selecionadas pela sua atividade *in vitro*, desenvolvemos a busca de modelos adequados para ensaios experimentais, em especial de parâmetros para monitoramento do tratamento. Objetivos: 1) estudo da síntese, atividade tripanocida e estudos de estrutura atividade com diferentes compostos (derivados de 3-aminopropenos, de naftoquinonas naturais e análogos de inositol); 2) estudo da atividade tripanocida e mecanismo de ação de alquil-lisofosfolipídeos sintéticos, agentes antimicrotúbulos; 3) estudo da atividade tripanocida e mecanismo de ação de própolis, em especial de amostras brasileiras; 4) estudo de parâmetros para monitoramento do tratamento de animais experimentais infectados.

Divulgação/educação científica em biologia celular – Essa linha iniciou-se no Laboratório através do envolvimento de suas pesquisadoras em atividades de divulgação científica no Espaço Ciência Viva, organização não governamental fundada em 1982 por cientistas de várias instituições no Rio de Janeiro. Na Fiocruz, elas têm atuado com consultoria em projetos do Museu da Vida/COC, implantado disciplinas da área de educação em ciências na pós-graduação (Popularização e alfabetização científica), e desenvolvido projetos de tese sobre o tema. Em 1998 Luiz Edmundo Aguiar defendeu a primeira tese de doutorado nessa área, que teve grande repercussão e obteve o primeiro prêmio em um concurso de trabalhos sobre "Desafios do Ensino de Ciências para o século XXI", na USP/Estação Ciência, em agosto de 1999. Linha de interface com o Laboratório de Biologia Celular de Microrganismos e com cooperação estreita com o Cefeteq, os trabalhos do grupo têm sido apresentados com grande sucesso em diversos congressos nacionais e internacionais da área. Hoje, além de prestar constante assessoria para a implantação de atividades interativas de biologia celular e parasitária para diversos museus no Brasil, e de formar pessoal especializado nessas atividades, essa linha desenvolve pequenos projetos rápidos com estudantes de mestrado e doutorado, brinquedos, jogos, programas de computador e outros meios de divulgação e educação em ciência. Objetivos: 1) desenvolver atividades, textos, materiais didáticos em instrumentos multimidia, modelos, conjuntos de lâminas e jogos, para atualização de professores e alunos e para mediar ações de popularização e alfabetização em biologia celular; 2) implantar e manter atualizada uma home-page para educação e atualização em biologia celular; 3) avaliar a exposição do setor de biologia celular do Museu da Vida/Fiocruz, atualizá-la permanentemente, e assessorar exposições em outros museus; 4) desenvolver programa de estágios para professores de biologia para participação em projetos de pesquisa em biologia celular e em educação em ciências; 5) desenvolver programa de orientação de estágios para alunos de curso médio em projetos de educação em biologia celular nas escolas.

Laboratório de Biologia Celular de Microrganismos

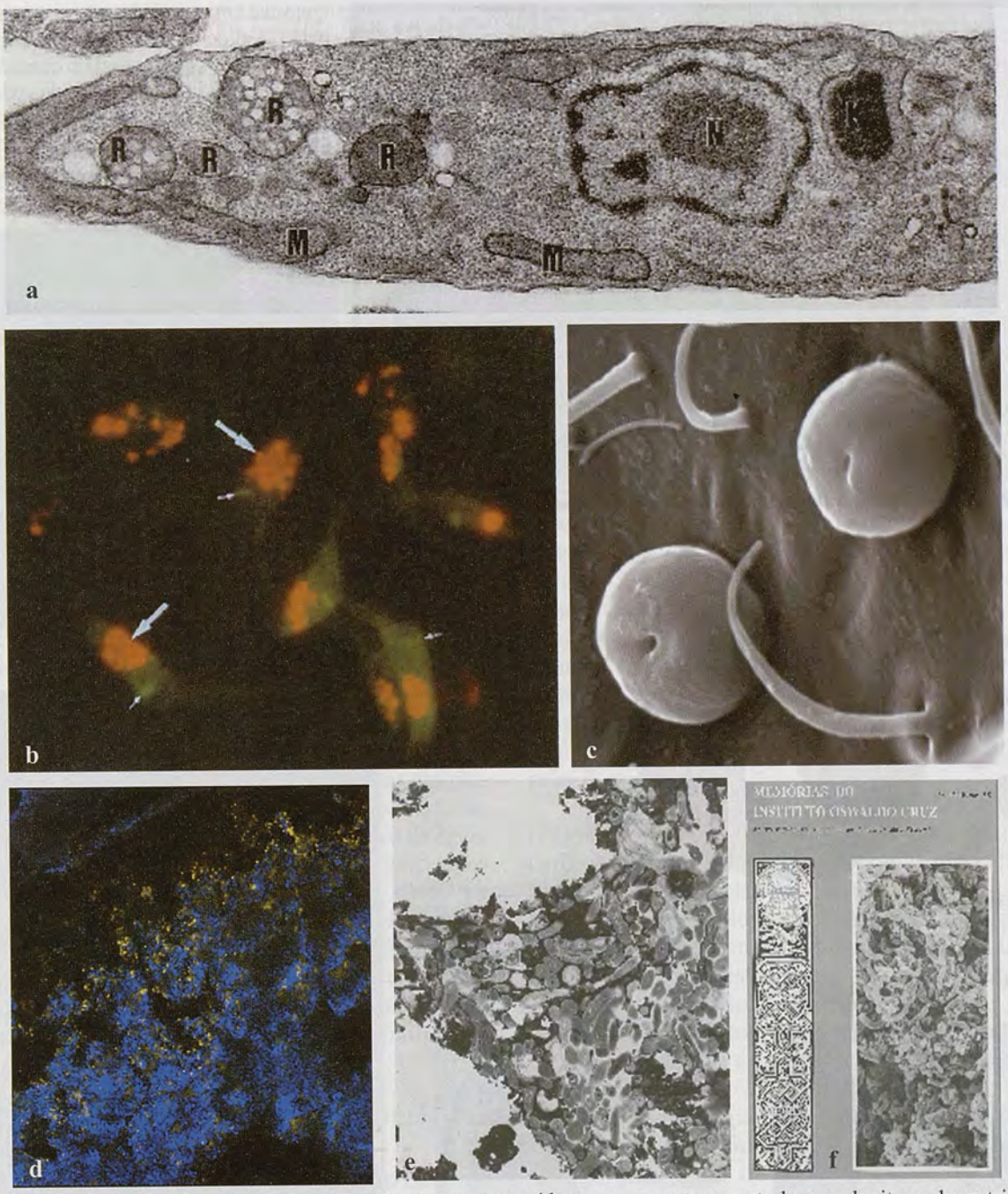
Biologia celular de protozoários tripanossomatídeos – Esta linha de pesquisa visa ao isolamento e à caracterização morfológica e fisiológica de protozoários da familia Trypanosomatidae. Basicamente em nível ultra-estrutural, são abordados, de um ponto de vista de biologia celular, aspectos do ciclo de vida, da diferenciação celular, da adesão ao substrato (e sua importância na diferenciação) e da nutrição destes parasitas.

O estudo da relação parasito-hospedeiro invertebrado, assim como das organelas citoplasmáticas específicas dos protozoários tripanossomatídeos, muitos dos quais parasitas patogênicos de interesse médico e veterinário, tem por objetivo levar à compreensão de aspectos de biologia celular, da fisiologia e do metabolismo desses protozoários.

O conhecimento do funcionamento das organelas celulares pode torná-las alvos potenciais para o desenvolvimento de agentes tripanossomicidas. O estudo de processos como a endocitose de proteínas e a diferenciação celular tem por alvo elucidar o ciclo de vida destes parasitas, permitindo descobrir novas maneiras de combatê-los. Neste sentido, a descoberta e caracterização morfológica dos reservosomos de formas epimastigotas de *T. cruzi* é uma das bases desta linha de pesquisa. Estudos estão sendo realizados no sentido de caracterizar morfologicamente e fisiologicamente esta organela, procurando demostrar seu envolvimento nos processos de nutrição e diferenciação celular deste parasita. Objetivos: 1) isolamento e caracterização morfológica, em nível ultra-estrutural, de tripanossomatídeos; 2) caracterização dos compartimentos celulares envolvidos na via endocítica em *T. cruzi*; 3) estudo do processo de diferenciação celular em tripanossomatídeos; 4) estudo da relação parasita-hospedeiro invertebrado.

Biologia celular de bactérias redutoras de sulfato – Esta linha de pesquisa objetiva ampliar os conhecimentos sobre os microrganismos envolvidos no processo da biocorrosão em sistemas de recuperação secundária de petróleo e visando, em especial, a melhoria da qualidade da água de injeção em plataformas de petróleo. Pretende-se, em particular, avaliar a cinética de formação e desorganização de biofilmes bacterianos na presença de diferentes ba-

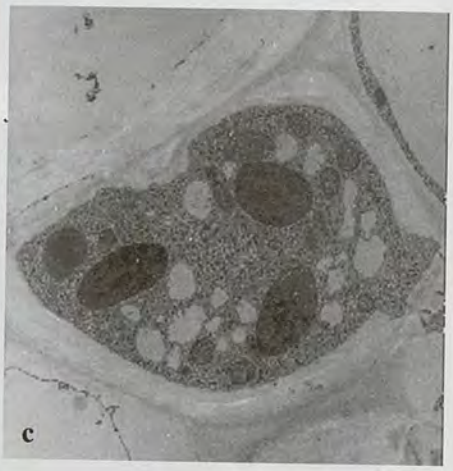
Biologia celular de microrganismos e insetos vetores



A linha de pesquisa sobre biologia celular de tripanossomatídeos e seus vetores estuda a endocitose de nutrientes pelos protozoários, que se acumulam em estruturas denominadas reservosomos, vistas por microscopia eletrônica de transmissão (a) ou microscopia de fluorescência (b), além de aspectos morfológicos dos insetos vetores como, por exemplo, as glândulas de feromônios de *Lutzomyia* sp. (inseto transmissor da leishmaniose), vistas por microscopia eletrônica de varredura (c). Na linha de pesquisa sobre bactérias redutoras de sulfato envolvidas em processos de biocorrosão em plataformas marítimas de petróleo, estudamos a formação e desorganização de biofilmes bacterianos sobre superfícies metálicas. Como visto por microscopia confocal de varredura a laser (d), as bactérias (em amarelo) aderem ao metal (em azul), o que resulta em processos de biocorrosão. Os biofilmes concentram inúmeras bactérias imersas em grande quantidade de elementos eletrodensos de matriz extracelular, como visto por microscopia eletrônica de transmissão (e) e de varredura (como na imagem vista em f). A primeira revisão do Departamento nessa linha foi publicada em 1992 e ganhou destaque na capa da revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (e).

Educação em ciência e divulgação científica

Química e Arte: motivando os estudantes para o estudo de oxi-redução. Esse trabalho, no qual os alunos faziam quadros sem tinta, apenas com produtos da oxidação de diversos metais, sob diferentes condições, recebeu o primeiro prêmio no concurso da Universidade de São Paulo.



Nascida de larga atuação em atividades do Espaço Ciência Viva, a linha de educação em biologia celular é apoiada atualmente pelo CNPq, e envolve pesquisadores dos três laboratórios do Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular. As duas teses desenvolvidas nessa área foram premiadas no concurso "O desafio de ensinar ciências no século XXI", promovido pela Universidade de São Paulo-Estação Ciência em 1999 (a, b). A partir de imagens reais de microscopia óptica e eletrônica (c), abandonamos os tradicionais esquemas e desenvolvemos vários modelos celulares (d, e), inclusive a célula gigante do Museu da Vida-Fiocruz (f). Jogos, livros infantis, estudos sobre mecanismos de motivação e melhoria do ensino, em particular de química e biologia celular, são idealizados e testados por alunos que se interessam por essa área, do Departamento, de outros departamentos do Instituto Oswaldo Cruz e de outras instituições.

ses ativas, bem como testar métodos alternativos do controle do crescimento microbiano sobre superfícies metálicas. O desafio é estabelecer esforços acadêmicos e integrados à indústria para o avanço da pesquisa nessa área.

Sendo a biocorrosão um problema real e persistente para a indústria do petróleo, esforços multidisciplinares vêm sendo realizados para determinar a extensão do problema e também conhecer melhor os seus mecanismos de ação e o seu controle. Apesar dos esforços, no Brasil, a pesquisa nessa área permanece restrita e normalmente recorre-se a soluções elaboradas e importadas de países desenvolvidos. As condições ambientais de crescimento de microrganismos no Atlântico Sul são necessariamente diversas daquelas da costa do Pacífico e do Mar do Norte, no que diz respeito à concentração de matéria orgânica, temperatura, pH e salinidade da água. Toda essa gama de variações ambientais certamente influencia a seleção dos gêneros e espécies bacterianas predominantes e a aplicação de tecnologia de combate à biocorrosão. Portanto, nada mais coerente do que buscar o desenvolvimento de tecnologia própria. Objetivos: 1) realizar, em laboratório, testes microbiológicos para a seleção de biocidas visando ao controle do crescimento de bactérias redutoras de sulfato, BRS, planctônicas e sésseis; 2) avaliar, através de técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e de varredura, o efeito de biocidas na desorganização de biofilmes bacterianos e/ou na ultra-estrutura de BRS, amostradas em plataformas de petróleo ou cultivadas em laboratório, em condições estáticas e dinâmicas de fluxo de água; 3) estudar, por microscopia eletrônica analítica, os produtos de corrosão associados ao biofilme microbiano; 4) caracterizar carboidratos da superfície (glicocálice) de BRS por técnicas de citoquímica ultra-estrutural em microscopia eletrônica e microscopia de fluorescência; 5) testar métodos alternativos no controle do crescimento de biofilmes.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

No ano do centenário do IOC, o nosso Departamento completa 23 anos. Nesse período, os equipamentos do Departamento estiveram instalados em dois prédios distintos e distantes. Apesar de um crescimento de mais de quinze vezes no quadro de doutores e de cerca de quatro vezes em equipamentos, o Departamento ficou contido numa área apenas ligeiramente maior que a ocupada inicialmente pela equipe alemã. Em 1998 a Diretoria e o Conselho Deliberativo do Instituto apoiaram a reivindicação do Departamento de reformar e modernizar suas instalações no Pavilhão Carlos Chagas. Essa decisão está em curso, ainda que prevista para durar quatro anos e passar por três fases distintas, envolvendo dois andares do prédio.

A primeira perspectiva que se nos apresenta é agregar todo o nosso potencial de trabalho e pesquisa, uma vez que será completada a primeira fase da reforma de nossas instalações físicas. Nas palavras de nosso mais antigo técnico de microscopia eletrônica, já aposentado e atualmente prestando serviços em tempo parcial aos pesquisadores, "parece um sonho que tenhamos levado vinte anos para que o Departamento deixasse de estar *aos pedacinhos* para se encontrar completo e reunido". Num futuro próximo, junta, e com seu instrumental de trabalho melhor instalado, a equipe de pesquisadores, madura e bem formada, poderá dimensionar seu crescimento quantitativo, para compatibilizar as atividades de investigação e de orientação de alunos.

Pretendemos continuar as linhas de pesquisa que estão em andamento, pois os seus resultados são promissores. Como cinco linhas convergem para a doença de Chagas, em aspectos de fisiopatologia e biologia básica da doença e de seu agente causal, bem como abordagens de químio e de imunoterapias, acreditamos ainda ter muito a contribuir para o conhecimento das bases fisiopatológicas da miocardiopatia chagásica que nos próximos vinte anos ainda ameaçará cerca de dois milhões de brasileiros infectados pelo *T. cruzi*.

Além disso, como nosso grupo domina as estratégias de cultura primária com obtenção de cardiomiócitos, células musculares esqueléticas, hepatócitos e fibroblastos, prevemos sua aplicação em estudos de patologias relacionadas a infecções parasitárias, buscando avanços na biologia da toxoplasmose, da leishmaniose e da malária, especialmente envolvendo fenômenos de fibrose e de granulomatose. Outras patologias, relacionadas às áreas de cardiologia e gastroenterologia, poderão vir a ser estudadas.

Quanto à biologia celular de procariotos, a primeira patente fornecida pelo Departamento à Fiocruz inaugurou a linha de pesquisa sobre biofilmes bacterianos, através da cooperação com a Petrobras, que se apresenta como promissora, sobretudo ao buscar correlações funcionais entre bactérias que causam corrosão em tubulações de petróleo e bactérias que causam colites ulcerativas.

Finalmente, na linha de educação em ciência, com a instalação dos cursos *lato sensu* para atualização e formação de professores na área de biologia celular, o Departamento pretende manter-se atuante na fronteira ciência-sociedade, cumprindo mais um de

seus papéis. Perspectivas de estruturação de coleções de imagens biológicas, a partir do enorme acervo de amostras e de blocos de tecidos disponível no Departamento, bem como de um serviço de fornecimento de material biológico para fins de ensino, são novos caminhos a serem trilhados.

DEPARTAMENTO DE ULTRA-ESTRUTURA E BIOLOGIA CELULAR

CHEFE: *Tânia Cremonini de Araújo-Jorge*

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA CELULAR

CHEFE: *Solange Lisboa de Castro*

Andrea Henriques Pons	Pesquisador Visitante/Faperj
Luiz Edmundo Vargas de Aguiar	Pesquisador Visitante/Cefeteq-RJ
Maria de Nazaré C. Soeiro	Pesquisador Adjunto
Maria Teresa Rivera	Pesquisador Visitante/CNPq
Solange Lisboa de Castro	Pesquisador Titular
Tânia C. Araújo-Jorge	Pesquisador Titular
Vinicius Cotta de Almeida	Pesquisador Adjunto

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA CELULAR DE MICRORGANISMOS

CHEFE: *Maurílio José Soares*

Cláudia Mara Lara Melo Coutinho	Pesquisador Visitante/UFF
Maurílio José Soares	Pesquisador Titular

LABORATÓRIO DE ULTRA-ESTRUTURA CELULAR

CHEFE: *Maria de Nazareth Silveira Leal de Meirelles*

Helene Santos Barbosa	Pesquisador Titular
Levi Marques Silva	Tecnologista
Maria Adelaide do Valle Matta	Pesquisador Titular
Maria de Nazareth S. L. de Meirelles	Pesquisador Titular
Mirian Claudia de Souza Pereira	Pesquisador Adjunto
Renato Porrozzi de Almeida	Pesquisador Adjunto
Suzana Côrte-Real Faria	Pesquisador Associado

DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA

HISTÓRICO

As atividades em virologia no Instituto Oswaldo Cruz (IOC) começam com Oswaldo Cruz ao lançar sua campanha de eliminação da febre amarela no Rio de Janeiro. Outra notável contribuição, também de Oswaldo Cruz, foi a campanha de vacinação obrigatória contra a varíola, a qual gerou uma revolta na população, fomentada pelo processo político da época.

Merecem ainda destaque os trabalhos de Henrique Aragão que, em 1927, sugeriu que fossem introduzidas na Austrália amostras do vírus do mixoma do coelho que é transmitido por mosquitos. Este vírus apresenta uma alta virulência para as raças européias de leporinos introduzidos pelo homem naquele país e que se tornaram uma grande praga para a agricultura. A sugestão somente foi posta em prática nos anos 50, com resultados espetaculares.

O Laboratório de Riquetsioses foi dirigido, nos anos 50, por Travassos da Rosa, pesquisador muito conhecido neste campo. Helio Gelli Pereira fez parte de seu laboratório, tendo o grupo realizado pesquisas de grande importância sobre a febre maculosa no Rio de Janeiro.

Antes deste grupo, José de Castro Teixeira, no IOC, havia trabalhado em riquetsias e sua transmissão por carrapatos. Este pesquisador recebeu, ao final da década de 30, uma bolsa de estudos da Fundação Rockefeller para se aperfeiçoar em virologia, visando à criação de um moderno laboratório no Instituto, o que realmente aconteceu. Construiu-se a ala da virologia do Pavilhão Cardoso Fontes e a Fundação Rockefeller forneceu equipamentos e insumos para o trabalho. Lamentavelmente Teixeira veio a falecer pouco tempo depois, sendo então o laboratório entregue a José Guilherme Lacorte, durante mais de duas décadas.

Sobre a febre amarela destacam-se os inúmeros estudos clínicos e patológicos sobre a doença desenvolvidos por membros do IOC ao longo das primeiras décadas do século. Assinale-se ainda que, durante a epidemia de influenza, em 1918, pesquisadores do IOC demonstraram, na mesma ocasião que outros grupos no mundo, que um vírus era o agente etiológico da doença.

O trabalho da Fundação Rockefeller e suas implicações na virologia do IOC, merecem um tratamento especial. A exemplo de outros países do mundo onde atuou, no Brasil a Fundação Rockefeller aliou seus laboratórios de pesquisa nos Estados Unidos a um sistema de trabalho de campo e de pesquisa local realmente notáveis. Após o início de seus trabalhos, principalmente no nordeste, foi construído o prédio no atual campus da Fiocruz, inaugurado em 1936. Além de pesquisadores americanos e de outras nacionalidades vários médicos brasileiros vieram a fazer carreira na Instituição. Particularmente importantes foram a descoberta do ciclo de floresta da febre amarela, a chamada febre amarela sem *Aedes*, que havia sido sugerida por Lutz e que foi comprovada por Soper em 1932 no Espírito Santo, quando se isolou vírus de *Hemagogus* próximos a casos humanos, em áreas onde não encontrava o *Ae. aegypti*, e o desenvolvimento da vacina contra a febre amarela.

Ao se encerrar o projeto no início dos anos 50, o prédio e todo seu acervo foi transferido para o IOC; na ocasião José Fonseca da Cunha, Henrique de Azevedo Penna e Madureira Pará foram incorporados ao nosso quadro de pesquisadores. Fonseca da Cunha veio a assumir, entre outras funções, a produção da vacina antivariólica, ferramenta fundamental para a erradicação da doença. A produção cobriu as necessidades do programa no Brasil, com a vacinação em massa de toda a população e ainda foi exportada para outros países das Américas e da África. Na ocasião, década de 60, o IOC fabricava dois tipos de vacina antivariólica, utilizando bovinos ou ovos embrionados na obtenção do vírus vaccinia, para posterior ampolagem e liofilização, com o que se eliminou a vacina líquida mantida em capilares, fonte de problemas de toda natureza no campo. Penna chefiou a então Divisão de Vírus do IOC por muitos anos e, como detentor da tecnologia do preparo da vacina contra a febre amarela, projetou o prédio, ainda hoje em funcionamento, para a produção da mesma. Esta vacina ainda é o nosso produto de maior expressão na área de imunobiológicos. Madureira Pará, como patologista, participou da montagem do maior acervo mundial de material patológico de febre ama-

rela, incluindo os espécimens coletados pela Fundação Rockefeller ao longo de vinte anos do projeto no país.

O atual Departamento tem sua origem em um Laboratório de Enteroviroses, montado com recursos da Opas, em 1960, quando era diretor Travassos da Rosa. O laboratório estava situado no andar térreo do prédio Rockefeller, era chefiado por Laura Queiroga e a ele se integrou, como bolsista Hermann G. Schatzmayr, em junho de 1961. Nesse laboratório se trabalhou em vários surtos de poliomielite e se prepararam os primeiros lotes de vacina Sabin oral contra a poliomielite no Brasil, a partir do concentrado importado, e que eram enviados para todo o país. Em 1964 o Laboratório de Enteroviroses foi destruído e para evitar que se ficasse sem um serviço de diagnóstico de poliomielite no Rio de Janeiro, no momento em que dezenas de casos da doença ainda eram notificados a cada ano, foi montado o Laboratório de Virologia no antigo Instituto Pasteur, hoje Noel Nuttels, cujo Setor de Virologia é, portanto, derivado diretamente do IOC.

Picobirnavirus. Novo grupo de vírus descoberto no Departamento de Viorologia em 1988 pelo Dr. Helio Gelli Pereira. Fotomicrografia eletrônica de transmissão. Barra = 160 nm

Após um período como chefe da produção de vacina antivariólica em ovos embrionados, Hermann Schatzmayr montou, a partir de outubro de 1967, um Laboratório de Virologia no Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), dirigido por Luiz Fernando Ferreira. Assinale-se que naquele tempo a ENSP funcionava independentemente das demais instituições existentes no campus de Manguinhos. Nesse laboratório, que funcionou por exatos dez anos, se reiniciaram os trabalhos com enterovírus, primeiramente com a colaboração de Akira Homma e Júlio Mesquita. Ao grupo inicial se somaram, ao longo dos anos, vários pesquisadores que até hoje integram o Departamento, como Ana Maria Coimbra Gaspar, Rita Maria Ribeiro Nogueira, Clara Tachibana Yoshida e Jussara Pereira do Nascimento.

Nessa fase, na ENSP, se realizaram vários estudos sobre enterovírus, alguns pioneiros como a demonstração de que era necessário aumentar a quantidade de Poliovírus tipo 3 na vacina oral Sabin, mudança esta que somente veio a ocorrer vários anos após, quando pesquisadores do CDC chegaram à mesma conclusão. Implantaram-se, pela primeira vez no país, as tecnologias de pesquisa de vírus em água e esgoto, tecnologias estas que foram repassadas por nosso grupo para a Cetesb em São Paulo e geraram várias teses.

Além da poliomielite foi estabelecido, em convênio com a Opas, um Laboratório de Referência Nacional para Diagnóstico Laboratorial da Varíola, que deu apoio decisivo ao programa de erradicação da doença, analisando centenas de amostras de pacientes suspeitos de estarem infectados. Nesse Laboratório foram isoladas as últimas amostras de varíola das Américas, a partir de casos clínicos investigados por João Baptista Risi, no bairro da Penha no Rio de Janeiro. Implantaram-se ainda serviços de diagnóstico de rubéola e de hepatites virais, igualmente pioneiros no Rio de Janeiro, com base na experiência internacional de vários membros do Departamento.

Em 1977, o então presidente da Fiocruz, Vinícius Fonseca, convidou o grupo para se reintegrar ao IOC, de vez que a pesquisa em virologia do Instituto, após o fechamento do Laboratório de Enteroviroses, tinha sido muito reduzida. Nessa ocasião ainda permanecia o grupo dirigido por Estácio Monteiro na antiga área do Laboratório de Influenza, no Pavilhão Cardoso Fontes, transformado em Laboratório de Herpes. Esta área viria a ser incorporada ao Departamento na década de 90, sofrendo reformas diversas, em especial a demolição dos antigos biotérios e a construção de uma ala moderna com dois pavimentos, contígua à parte mais antiga. Construiu-se ainda um laboratório de maior segurança, utilizado principalmente para os projetos em retrovírus do Departamento.

Laboratório de Virologia Comparada

O Laboratório de Virologia foi transferido, em outubro de 1977, da ENSP para o Pavilhão Rocha Lima. Com mais espaço foi possível ampliar as linhas de trabalho. Com a vinda de Helio Gelli Pereira, em 1979, e de Peggy Pereira, pouco depois, o Laboratório atingiu alto nível científico. Helio Pereira perma-

neceu cerca de oito anos e implantou linhas de pesquisa em diarréias virais, em especial rotavírus, sendo descobertos os novos grupos de vírus denominados picobirnavírus e picotrinavírus. O Laboratório evoluiu para incluir o estudo de outros vírus causadores de diarréia, sob aspectos moleculares e epidemiológicos e foi responsável pela descrição dos primeiros perfis eletroforéticos (eletroferotipos) do dsRNA dos rotavírus circulantes em alguns estados brasileiros. Pela análise conjunta de diferentes metodologias, foram descritos, pela segunda vez no mundo, os "rotavírus atípicos", classificados posteriormente como rotavírus grupo C. Em seguida, teve início o trabalho com adenovírus entéricos e a padronização de um teste imunoenzimático que permitiu o relato dos primeiros casos desses vírus em países em desenvolvimento. Através da microscopia eletrônica (ME), astrovírus foram descritos como agentes etiológicos da diarréia infantil aguda, sendo esse, o segundo relato no Brasil, mas o primeiro onde foi comprovado serem as partículas observadas na ME.

No ano de 1988, Pereira e colaboradores, tentando detectar rotavírus em cobaios e ratos do Biotério Central da Fiocruz detectaram, através da eletroforese em gel de poliacrilamida, a presença de um dsRNA bissegmentado. Na ME foram observadas partículas virais com 30 nm de diâmetro, que foram denominadas de picobirnavírus (PBV). Posteriormente, estes vírus foram detectados em diversos mamíferos e aves. Em trabalho para se definir a associação de PBV à etiologia da diarréia em aves, dada à importância econômica destas, Leite e colaboradores, em 1990, descreveram um novo vírus, morfologicamente semelhante aos PBV, mas com um dsRNA trissegmentado, que denominaram picotrirnavírus (PTV). Inúmeros trabalhos vêm descrevendo a presença de PBV e PTV em indivíduos HIV soropositivos e com diarréia, mas ainda não se pode definir que estes vírus sejam agentes etiológicos de gastroenterite.

As questões relacionadas com a determinação dos sorotipos e genótipos de rotavírus, o desenvolvimento de novas vacinas e o início da comercialização destas, determinaram a necessidade de caracterização dos genótipos G e P de rotavírus, particularmente aqueles definidos como incomuns e aqueles provenientes de infecções inter-espécies. A diversidade antigênica e genética observada demostrou a necessidade de um estudo de vigilância epidemiológica dos rotavírus no Brasil, anterior à introdução da vacina. Atualmente, o Laboratório dá suporte ao Ministério da Saúde no desenvolvimento de metodologias para a detecção e caracterização da diversidade antigênica e genética dos rotavírus, para avaliar estudos pilotos com vacina assim como eventuais campanhas de vacinação.

Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo

O Laboratório foi reestruturado em 1979 por M. S. Pereira (Peggy Pereira). Desde a década de 50 já havia sido credenciado como Centro Nacional de Influenza pelo Ministério da Saúde e OMS. Em 1980, J. P. Nascimento assumiu a direção do Laboratório, sendo responsável por ele até o ano de 1992 quando assumiu a chefia M. M. Siqueira. No início da década de 80, juntaram-se ao laboratório J. R. Chaves, F. Suttmoller, V. Ferreira, M. Krawczuck , M. M. Siqueira e S. A Portes. Posteriormente A. S. Cruz e T. S. Andrade e F. Friedrich passaram a integrar a equipe.

O trabalho desenvolvido por este Laboratório na década de 80 sobre epidemiologia e implantação de técnicas laboratoriais clássicas e moleculares para diagnóstico de vírus respiratórios foi pioneiro na América Latina, recebendo seus pesquisadores vários convites para consultoria e treinamento de pessoal de países sul-americanos como Argentina, Uruguai e Panamá.

Demonstrou-se a epidemiologia do vírus respiratório sincicial no Rio de Janeiro e verificou-se que, juntamente com os adenovírus, são os responsáveis por 80% dos casos de infecção respiratória aguda de etiologia viral. Estes dados levaram à produção, pelo Laboratório, de soros imunes anti VSR e adenovírus para diagnóstico rápido por imunofluorescência. Isto possibilitou o treinamento de profissionais e a implantação do diagnóstico rápido de vírus respiratórios em vários estados brasileiros e centros de pesquisa, com o desenvolvimento de teses nesses locais. Esses fatos vêm ocorrendo sistematicamente ao longo dos anos até o presente momento; em 1999, quatro teses foram defendidas, em quatro estados brasileiros, sobre vírus respiratórios, sob orientação deste Laboratório.

Em 1991, o Ministério da Saúde elaborou o Plano de Eliminação de Sarampo em nosso país. Em 1992, em reunião realizada no Ministério da Saúde com os laboratórios estaduais, o Laboratório foi indicado para exercer o papel de Centro Nacional de Referência em Sarampo. Em 1995, a Opas escolheu o Laboratório como parte da Rede Regional de Laboratórios da Opas. Em 1997, juntamente com o Laboratório de Sarampo do CDC/Atlanta, passou a ser Laboratório de Referência para o Isolamento Viral do Sarampo na Região das Américas. Este Centro participa ativamente junto com o Ministério da Saúde e Opas no treinamento de profissionais do Brasil e América Latina em cursos de vigilância epidemiológica e laboratorial, desenvolvendo, também, tecnologia para diagnóstico de IgM por saliva e técnicas moleculares para análise genotípica do sarampo e rubéola.

Laboratório de Hepatites Virais

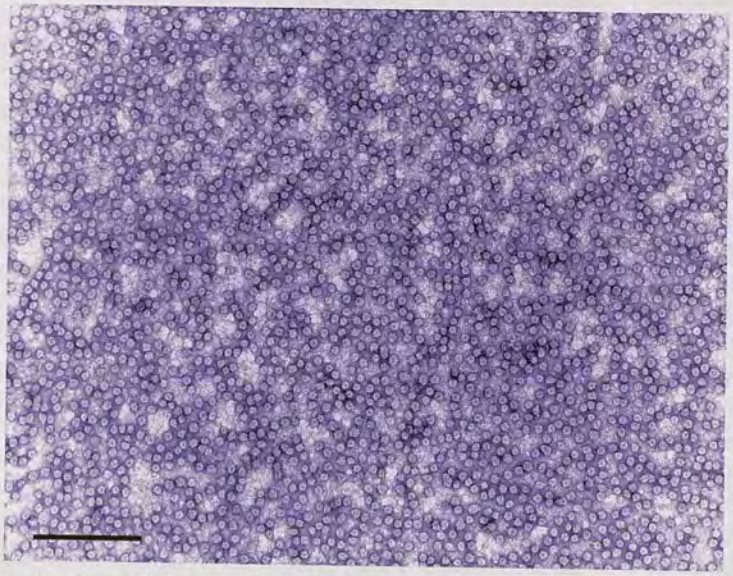
As atividades de pesquisa em hepatites virais se iniciaram em 1976, sob a orientação de Hermann Schatzmayr, com base em estudos voltados ao desenvolvimento de metodologias para uso em diagnóstico e epidemiologia da hepatite B.

A partir de 1984, os primeiros projetos aprovados por órgãos financiadores introduziram a pesquisa em hepatite A. No final dos anos 80 com a formação de novos pesquisadores e tecnologistas o grupo separou suas atividades para formar dois laboratórios, o de Hepatites Virais e o de Desenvolvimento Tecnológico.

O nosso foi reconhecido como referência pelo Ministério da Saúde e com isso suas atividades se voltaram também para os serviços de referência como o desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico, capacitação de recursos humanos e pesquisas voltadas para o conhecimento da distribuição das diferentes formas das hepatites A, B, C, D e E em populações de risco e de áreas consideradas endêmicas e ainda populações normais de diferentes regiões geográficas, obtendo dados para subsidiar os programas do Ministério da Saúde para controle destas viroses.

Atualmente o Laboratório está voltado para as pesquisas na área de transmissão das hepatites parenteralmente transmissíveis, que envolvem o diagnóstico molecular, a genotipagem viral e seu envolvimento nos mecanismos de transmissão e de tratamento.

Outro estudo a ser destacado é a pesquisa da infecção dos vírus das hepatites em usuário de drogas.



Partículas esféricas do vírus da hepatite B; fração purificada de seqüência de gradientes preparada no Departamento de Virologia. Fotomicrografia eletrônica de transmissão. Barra = 250 nm

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia

O Laboratório foi criado no final dos anos 70, de uma associação entre pesquisadores do Departamento e tecnologistas de Biomanguinhos, com o objetivo de produzir vacinas e reativos para o diagnóstico. O objetivo inicial foi o desenvolvimento e produção de reativos para o diagnóstico da hepatite B. Durante alguns anos trabalhamos nesta cooperação e outros profissionais se formaram.

Já no final dos anos 80 a equipe foi dividida em Laboratório de Hepatite Virais, Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico e Centro de Referência Nacional para Hepatites Virais.

O primeiro kit de diagnóstico desenvolvido era para a detecção do antígeno HBs do vírus da hepatite B por hemaglutinação passiva reversa. Logo após desenvolvemos o kit para detecção do mesmo antígeno por ELISA, seguindo as orientações do CDC que também fez uma avaliação final deste produto.

Continuamos nossa cooperação com Biomanguinhos ao longo desses anos que resultou na obtenção de anticorpos monoclonais anti-HBs que são utilizados no kit de ELISA produzido até o momento.

Atualmente estamos, ainda dentro desta parceria, trabalhando na produção de kits para diagnóstico de hepatite A.

Em relação às nossas atividades de pesquisa estamos concentrados nos estudo sobre a epidemiologia das infecções pelos vírus das hepatites de transmissão entérica A e E (HAV e HEV), patogenia do vírus das hepatites A e C utilizando infecções experimentais em primatas não-humanos e epidemiologia molecular do vírus da hepatite A.

Laboratório de Virologia Molecular

Durante o ano de 1993 os pesquisadores Selma de Andrade Gomes e Christian Maurice Gabriel Niel retornaram ao Departamento após quatro anos de atividade de pesquisa na França. Diante das prioridades do Departamento na época, iniciaram novos temas de pesquisa. Uma colaboração estreita com o Laboratório de Hepatites Virais foi criada e um novo grupo de pesquisa se formou para o desenvolvimento de trabalhos em virologia molecular tendo como alvo os vírus causadores de hepatites humanas. Em dezembro de 1993 o novo núcleo, embora contando com uma equipe constituída de profissionais que não realiza-

vam previamente trabalhos em hepatites virais, já estava suficientemente forte e produtivo.

O Laboratório foi credenciado em 1994 com o seguinte parecer: "formação acadêmica da liderança do grupo excelente; apresenta boa produção científica; o grupo é pequeno mas é bom, produtivo e bem definido. Recomenda-se fortemente um apoio institucional ao grupo, visto ter sido sua competência, amplamente reconhecida ...".

Atualmente o grupo se dedica a duas grandes linhas de pesquisa: 1) epidemiologia molecular dos vírus da hepatite B. Dentro deste universo, trabalhamos também na produção de antígenos virais expressos em células eucarióticas; 2) caracterização molecular e prevalência de novos vírus associados a hepatites virais. Neste tópico estudamos o vírus da hepatite G e vírus TT.

Laboratório de Enterovírus

O Laboratório, primeiro a ser estabelecido no Departamento, foi implantado em 1960. A partir de 1982, tornou-se Centro Nacional de Referência para enteroviroses/Centro Colaborador da Opas/OMS.

Ao par de estudar surtos de poliomielite no país, o Laboratório implantou métodos moleculares de diferenciação intratípica de poliovírus e estudos moleculares de outros enterovírus. Foi dirigido inicialmente por Hermann Schatzmayr, contou com a participação por muitos anos de Mitiko Fujita e Ana Maria Bispo de Filippis e atualmente tem a coordenação de Edson Elias da Silva.

Na década de 80, atuou como referência para o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, realizando a titulação de vacinas de poliomielite, importadas pelo Ministério da Saúde. O Laboratório e seus pesquisadores tiveram papel fundamental para o êxito da Campanha de Erradicação da Poliomielite no país e na América Latina, participando de inúmeros eventos nacionais e internacionais relativos ao programa, treinando dezenas de profissionais de muitos países, realizando o diagnóstico laboratorial de casos suspeitos para o Brasil e outros países da América Latina, caracterizando geneticamente as amostras isoladas e estabelecendo a epidemiologia molecular da poliomielite.

Laboratório de Flavivírus

O Laboratório surgiu quando, em abril de 1986, o Departamento foi solicitado a colaborar no esclarecimento de uma epidemia de agente desconhecido, no município de Nova Iguaçu, e que foi atribuída inicialmente à poluição química por uma indústria situada nas proximidades.

O vírus dengue tipo 1 foi isolado nos primeiros nove casos estudados, utilizando-se metodologias e reagentes trazidos por Rita Maria Ribeiro Nogueira que havia participado de um curso de diagnóstico de dengue, poucas semanas antes na Venezuela. A epidemia de dengue rapidamente se expandiu para estados do Nordeste e hoje a doença atinge praticamente todo o país. Com isto desativou-se o Laboratório de Viroses Congênitas que durante vários anos estudou síndromes causadas por rubéola e citomegalovírus, em colaboração com Ludman Trotta e Aparecida Garcia do Instituto Fernandes Figueira.

O Laboratório tornou-se importante pela formação de recursos humanos para o país e América Latina, com o apoio da Opas. Mais de uma dezena de surtos foram estudados, definindo o modelo clínico e epidemiológico da infecção no Brasil. Foram implantadas técnicas moleculares de diagnóstico, bem como estudos sobre fatores de risco para doença e sobre a patologia e patogenia da infecção com a colaboração de Marize P. Miagostovich. O ambulatório de dengue do Hospital Evandro Chagas colaborou com o Laboratório em vários estudos, gerando informações importantes sobre a infecção no estado.

O Simpósio Internacional sobre Dengue, organizado pelo Departamento em 1996, reuniu os maiores especialistas do mundo e projetou igualmente os trabalhos dos pesquisadores brasileiros nessa doença, considerada como a mais importante infecção viral transmitida por artrópodos no mundo.

O Laboratório realiza ainda diagnóstico de febre amarela, estudos sobre resposta imune em vacinados e métodos rápidos de detecção de vírus com a colaboração de Ana Maria Bispo de Filippis.

Laboratório de Ultra-estrutura Viral

Em junho de 1990 instalou-se o microscópio eletrônico do Departamento, adquirido com recursos de projeto do Ministério da Saúde para diagnóstico rápido de viroses. O grande esforço para se conseguir o aparelho acabou sendo plenamente compensado, pois o Departamento dispunha de dois pesquisadores experientes, Ortrud Monika Barth e Pierre Bauer. Estes pesquisadores haviam estabelecido o preparo dos espécimens, utilizando microscópios de outro departamento ou da UFRJ para suas pesquisas.

Nesse esquema o Laboratório participou do isolamento da primeira amostra de HIV no Brasil confirmando, ao ME, a morfologia do isolado e da primeira identificação de rotavírus no país. Com a nossa própria aparelhagem foi possível expandir as atividades tanto na ME direta para diagnóstico rápido, como em projetos sobre a morfogênese de rotavírus e dengue. Outras atividades importantes no diagnóstico rápido de viroses incluem o estudo de infecções por poxvírus, especialmente no diagnóstico diferen-

cial com o grupo herpes e o diagnóstico dos agentes de diarréia viral.

Núcleo de Imunologia Viral

O Núcleo possui linhas de pesquisa relacionadas com mecanismos imunopatológicos de infecções virais. Atualmente as linhas principais abordam os vírus dengue e hepatite A. É basicamente multidisciplinar visando estabelecer uma interseção entre a virologia e a imunologia. Conta também com a colaboração de médicos e veterinários que têm analisado o aspecto clínico-patológico das infecções virais.

A pesquisa clínica de imunopatologia do dengue consiste no estudo da resposta imunológica celular e da produção de citocinas e sua correlação com parâmetros clínico-laboratoriais. Visa à caracterização de células imunológicas e citocinas em pacientes durante infecções por dengue. Pretende associar os perfis das subpopulações de leucócitos mononucleares e da produção de citocinas com as variações clínico-laboratoriais da doença, incluindo severidade e variações individuais e caracterizar, se possível, as células e citocinas relevantes para patogenia e/ou proteção. Como objetivo final poderão ser estabelecidos parâmetros imunológicos de gravidade da doença, que inexistem até o momento.

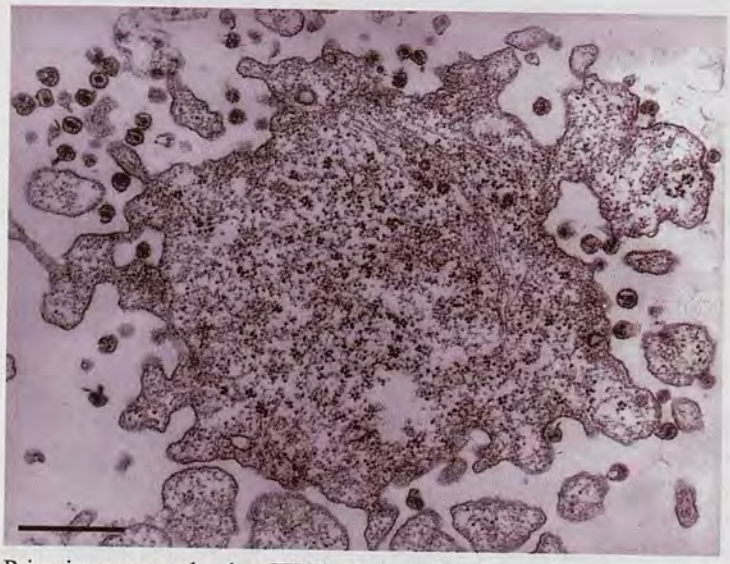
Uma linha de pesquisa básica consiste na avaliação da infecção *in vitro* de monócitos utilizando vírus selvagens isolados de pacientes durante as epidemias de dengue tipos 1 e 2. Estão sendo avaliadas a carga viral e várias funções da célula hospedeira tais como apoptose e produção de citocinas, com o intuito de se estabelecer uma relação da infecção/produção de fatores com a severidade da doença no indivíduo doador do vírus.

Outra linha de pesquisa multidisciplinar é a de imunopatologia de hepatite A experimental, realizada em estreita colaboração com o Laboratório de Desenvolvimento de Tecnologia em Virologia e com o Laboratório de Neurovirulência de Biomanguinhos. Visa determinar a correlação de células e citocinas produzidas durante a infecção experimental de hepatite A com a imunopatologia (lesões histológicas). Manipulações imunológicas, como administração de citocinas, com o intuito de favorecer a cura ou abrandamento da doença poderão em breve fazer parte dos objetivos desta linha de pesquisa.

Núcleo de Retrovírus

O Núcleo foi estabelecido na década de 80, como uma resposta ao surgimento das infecções pelo vírus HIV no país. Decidiu-se estabelecer como sua linha principal o acompanhamento de infecções pediátricas em colaboração com o Instituto Fernandes Figueira, em vários aspectos de sua imunogênese e resposta a esquemas de tratamento.

Um outro núcleo está sendo implantado para o estudo das riquetsioses e hantaviroses, dois grupos de infecções em expansão no país, dependendo da montagem de um laboratório de segurança para seu manejo. Este laboratório para nível 3 de segurança biológica encontra-se em fase de projeto.



Primeira amostra do vírus HIV isolada no Brasil em 1987, com a participação do Departamento de Virologia. Fotomicrografia eletrônica de transmissão. Barra = 0,6 μm

LINHAS DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO

Apresentando-se os temas por Laboratório, e sem a pretensão de esgotar os projetos de pesquisa em andamento, tendo em vista o dinamismo do desenvolvimento de novos conhecimentos em cada área, podemos descrever resumidamente, as seguintes linhas de pesquisa:

Laboratório de Hepatites Virais

Identificação de novos genotipos do vírus da hepatite C (HCV) através do seqüenciamento do genoma viral – A comparação das seqüências de nucleotídeos de amostras do vírus da hepatite C isoladas de diferentes partes do mundo, indica uma alta heterogeneidade. Com base em análises filogenéticas do gen

do envelope E1, reconhecem-se pelo menos doze subtipos distintos, sendo previsto um número ainda maior a ser identificado. Esta diversidade tem várias implicações, entre elas diferentes evoluções clínicas e grau de severidade da doença em relação ao subtipo infectante, diferente resposta ao tratamento com interferon e implicações diretas no eventual desenvolvimento de uma vacina que deverá conter os mais representativos subtipos. Assinale-se que os subtipos 1a e 1b são os mais comuns. O projeto deverá caracterizar a variabilidade genética do ácido nucleico viral e eventualmente identificar novos genotipos de HCV não detectados pelas técnicas convencionais. Serão igualmente desenvolvidos primers de maior sensibilidade para os testes de PCR em uso para o diagnóstico laboratorial da hepatite C.

Implementação e acompanhamento dos sistemas de diagnóstico das hepatites A, B e C na rede de laboratórios de saúde pública – O Laboratório, como Centro Nacional de Referência em Hepatites Virais, fornece suporte às atividades dos laboratórios através de diversos mecanismos como o treinamento de pessoal, implantação de novas tecnologias, investigação de surtos ou episódios de hepatites virais e acompanhamento da qualidade dos testes em utilização. O projeto deverá continuar, ao longo dos próximos anos, acompanhando a evolução dos testes de diagnóstico, inclusive os desenvolvidos para as hepatites A e B e sua aplicação às amostras de vírus circulantes no país.

Estudos sobre a prevalência e a identificação de fatores envolvidos na transmissão das hepatites virais em diferentes grupos populacionais (sadios e de risco) – O projeto pretende ampliar os estudos de prevalência e incidência das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C em diferentes grupos populacionais e procedentes de diferentes regiões do país, incluindo surtos em creches, unidades de hemodiálise e outras instituições. Os fatores de risco para as hepatites virais não são totalmente conhecidos, em particular em relação à hepatite C, onde em uma percentagem entre 10 a 20% das infecções, não se consegue reconhecer a sua origem. O Departamento tem acompanhado ao longo dos anos diversos surtos e episódios causados por vírus e vem acumulando dados sobre aqueles fatores mais importantes em nossas condições. Estas investigações, a par dos aspectos epidemiológicos, têm dado acesso a amostras virais utilizadas em estudos moleculares e de caracterização gênica, como uma amostra de hepatite A que foi totalmente seqüenciada e está sendo utilizada para a expressão de proteínas do vírus, como adiante descrito.

Expressão e purificação da proteína VP1 do vírus da hepatite A (HAV) – Propõe-se expressar e purificar a proteína VP1 recombinante do HAV em sistema bacteriano (*Escherichia coli*) para ser utilizada como fonte de antígeno no desenvolvimento de testes sorológicos para hepatite A. Uma amostra de hepatite A foi isolada em cultura de células, caracterizada biologicamente e posteriormente seqüenciada em projeto colaborativo com o Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Esta amostra, a primeira de hepatite A isolada no país, está sendo utilizada para a expressão de proteínas do vírus, com a finalidade de se obter antígenos para os testes de diagnóstico sorológico desenvolvidos no Departamento e, a depender dos resultados, para a obtenção de antígenos indutores de resposta imune em vertebrados.

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico

Avaliação da circulação dos vírus das hepatites A e E no Brasil – O projeto propõe avaliar a incidência e a prevalência das hepatites de transmissão entérica e o impacto das melhorias do saneamento básico no perfil epidemiológico da hepatite A. As reconhecidas carências dos sistemas de saneamento básico no país têm direta influência na prevalência das infecções de veiculação oral. No caso da hepatite A, a infecção que ocorria classicamente nos primeiros anos de vida nos níveis sócio-econômicos mais baixos, vem sofrendo um desvio para faixas etárias mais elevadas, onde tende a apresentar maior expressão clínica e gravidade. A melhora dos sistemas de saneamento em muitas áreas, apesar dos problemas ainda existentes, seria o fator mais importante desta mudança de comportamento, a exemplo do que se observou em países que tiveram um desenvolvimento acentuado nas últimas décadas, como o Japão. Comunidades, como a de Manguinhos, que vêm sendo acompanhadas pelo Departamento nos últimos anos, têm confirmado estes dados. Os estudos deverão ser expandidos, incluindo-se quando possível a avaliação das infecções pela hepatite E, cuja presença no país foi confirmada, porém pouco se conhece sobre sua circulação. Os dados que estão sendo obtidos relativos à hepatite A, têm direta aplicação nos programas de controle desta virose, em particular no uso racional da vacina.

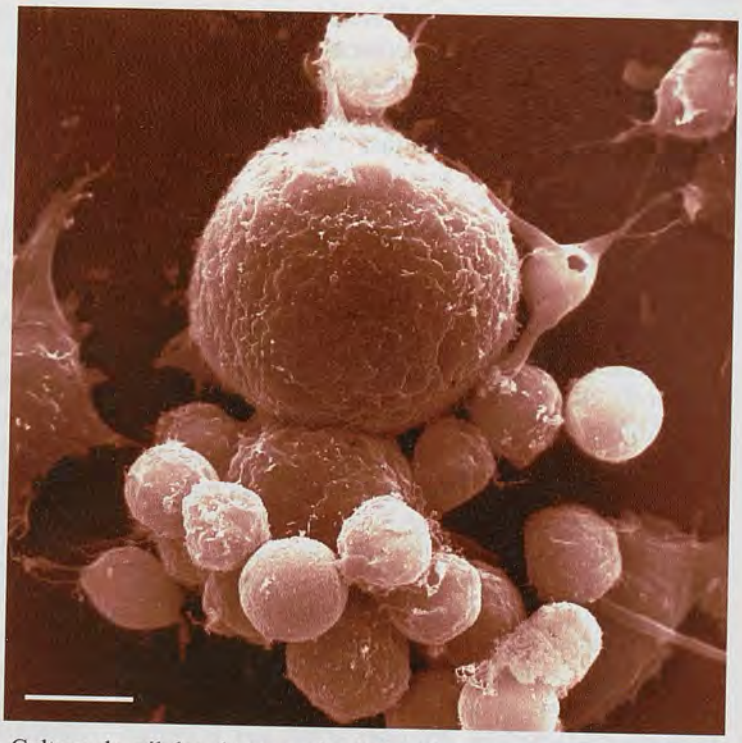
Desenvolvimento de antígenos imunizantes para hepatite A – Este projeto vem sendo desenvolvido pelo Laboratório, com o objetivo de se obter antígenos de hepatite A, a partir de vírus cultivados em cultura de células, seguido de sua purificação e inativação em condições padronizadas. Vários mé-

todos de purificação foram desenvolvidos e comparados, e testes de análise da resposta imunológica em animais de experimentação estão sendo preparados. Avaliam-se, igualmente, as metodologias de titulação dos antígenos, de acordo com padrões internacionais. O baixo rendimento da replicação do vírus da hepatite A em células constitui a maior dificuldade do projeto e diversos parâmetros desta replicação estão sendo avaliados.

Laboratório de Virologia Molecular

Expressão de genes do vírus da hepatite B em células em cultura – O projeto prevê a expressão do gen da proteína S da superfície do vírus em células de eucariontes com vistas a se obter antígenos purificados semelhantes aos antígenos obtidos a partir da partícula viral. Resultados iniciais indicam a viabilidade da proposta e as pesquisas sobre a mesma deverão ser continuadas.

Pesquisas sobre novos possíveis agentes virais de hepatite – Além dos diversos vírus de hepatite reconhecidos como agentes de infecção no homem, outros novos vírus identificados principalmente no sangue, têm sido apontados como igualmente responsáveis por quadros de hepatite. Entre estes, o vírus denominado TTV tem sido estudado em vários países. Nosso projeto inclui a aplicação de métodos moleculares para identificação de amostras deste vírus circulante no país e a epidemiologia molecular das nossas amostras.



Cultura de células de mosquito infectada com vírus dengue tipo 2 isolado no Departamento de Virologia. Formação de sincício, característica do efeito viral. Fotomicrografia eletrônica de varredura. Barra = 6,5 µm

Laboratório de Flavivírus

Avaliação de resposta imune em vacinados contra a febre amarela e detecção da viremia por RT-PCR – O projeto propõe a avaliação da imunidade conferida pela vacina da febre amarela em primo vacinados, a implantação da metodologia de RT-PCR para a detecção de vírus da febre amarela em vacinados e o seqüenciamento parcial do vírus da febre amarela. A proposta de vacinação de largos segmentos da população brasileira contra a febre amarela, nos próximos anos, deve ser embasada em dados atuais sobre a resposta vacinal, que constitui parte deste projeto.

Clonagem de polipeptídeos do vírus dengue tipo 2 – O seqüenciamento completo de uma amostra brasileira de dengue 2 está sendo executado em colaboração com a Universidade da Califórnia, para posterior identificação de polipeptídeos recombinantes aplicáveis a testes de diagnóstico laboratorial do dengue.

Epidemiologia molecular e avanços no diagnóstico dos vírus dengue – O projeto prevê o seqüenciamento parcial de amostras de dengue tipos 1 e 2, representativas de diferentes regiões do país e coletadas em diferentes ocasiões desde 1986, com o objetivo de reconhecer as possíveis variações ocorridas, em relação a amostras isoladas em outras regiões do mundo. Propõe-se ainda estabelecer e avaliar método imunoenzimático para o reconhecimento de anticorpos da classe IgG de dengue para introdução como método padrão na determinação do nível desta classe de anticorpos no sangue de pacientes, substituindo outros métodos atualmente em utilização.

Desenvolvimento e aplicação de métodos rápidos de diagnóstico laboratorial de infecções por flavivírus – A técnica de RT-PCR será aplicada na vigilância laboratorial de dengue e febre amarela, com possível expansão a outros flavivírus. O objetivo do projeto é proporcionar uma rápida resposta laboratorial diante de suspeita de infecção pelo grupo, em especial no caso de febre amarela, que exige um rápido diagnóstico, para aplicação imediata de medidas de controle. Estas tecnologias poderão ser implantadas em laboratórios de saúde públi-

ca no diagnóstico de flavivírus, em apoio às atividades desses laboratórios.

Laboratório de Enterovírus

Caracterização molecular de amostras de vírus da poliomielite isolados em casos de paralisia flácida – A erradicação da circulação dos vírus selvagens nas Américas, significou a eliminação dos casos de poliomielite causados por esses vírus. Como essas amostras virulentas continuam a circular em várias regiões da África e da Ásia, a vacinação oral deverá ser mantida nos próximos anos, exigindo a manutenção de uma vigilância epidemiológica ativa de casos de paralisia flácida. O Laboratório participou do desenvolvimento de primers específicos para amostras brasileiras de poliomielite e vem executando a caracterização genética de todas as amostras isoladas no país.

Desenvolvimento e aplicação de métodos moleculares para caracterização de vírus não-pólio associados a casos de paralisia flácida – Outros enterovírus têm sido descritos como agentes etiológicos de paralisia flácida, em especial o enterovírus 71, capaz de causar quadro grave de paralisia persistente, clinicamente indistinguível daquela produzida pelos vírus da poliomielite. Foram desenvolvidas e estão sendo aplicadas metodologias para rápida identificação desses vírus e o projeto prevê a aplicação dos mesmos métodos a outros enterovírus.

Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo

Caracterização laboratorial de viroses exantemáticas – O quadro de exantema apresenta-se em várias infecções por vírus sendo de difícil distinção do ponto de vista clínico. Dentre as viroses pesquisadas pelo Laboratório, sarampo e rubéola se constituem em problemas de saúde com diferentes enfoques e metodologias de controle, sendo de grande importância distingui-las ao nível laboratorial. O projeto realizará uma comparação entre métodos de diagnóstico das duas viroses e uma análise das manifestações clínicas em relação aos resultados laboratoriais obtidos.

Definir a sazonalidade do vírus da influenza em alguns estados brasileiros e analisar genomicamente as cepas circulantes – O vírus da influenza sofre modificações constantes durante seus processos de replicação em hospedeiros humanos e animais, tornando-se essencial examinar cada amostra isolada no país, dentro das responsabilidades do nosso Centro Nacional de Influenza, comparando-as com amostras circulantes em outras regiões do mundo.

Epidemiologia molecular do sarampo – As extensas vacinações contra o sarampo, realizadas nas Américas, levaram a uma grande redução do número de casos notificados. Como o vírus continua a circular em muitas regiões do mundo, reintroduções de amostras virais têm sido observadas no país e a identificação de sua origem geográfica tem direta aplicação nas medidas de controle do sarampo em escala mundial. Os vírus de sarampo isolados serão seqüenciados e comparados com as amostras conhecidas de outras regiões.

Laboratório de Ultra-estrutura Viral

Estudos moleculares e ultra-estruturais sobre morfogênese viral – O projeto está sendo desenvolvido para se conhecer os mecanismos de morfogênese e replicação viral em células e em modelos animais dos vírus dengue, retrovírus e astrovírus.

Estudos de citopatologia ultra-estrutural de vírus dengue e hepatite C – No projeto estão sendo avaliadas as lesões produzidas pelo vírus dengue no modelo animal do camundongo, em especial ao nível do fígado, baço, sistema nervoso central e pulmão e com o vírus da hepatite C em primatas infectados experimentalmente com o vírus.

Laboratório de Virologia Comparada

Detecção e caracterização molecular de calicivírus humanos – As diarréias humanas de origem viral são causadas por diversos agentes entre eles os calicivírus que incluem o vírus denominado Norwalk e vírus a ele relacionados, como os chamados *small round structured viruses*. Os dados sobre esses agentes de diarréia no Brasil são limitados e o projeto visa conhecer a distribuição e a estrutura genômica das amostras circulantes no país, como importante contribuição para o conhecimento da etiologia das diarréias virais.

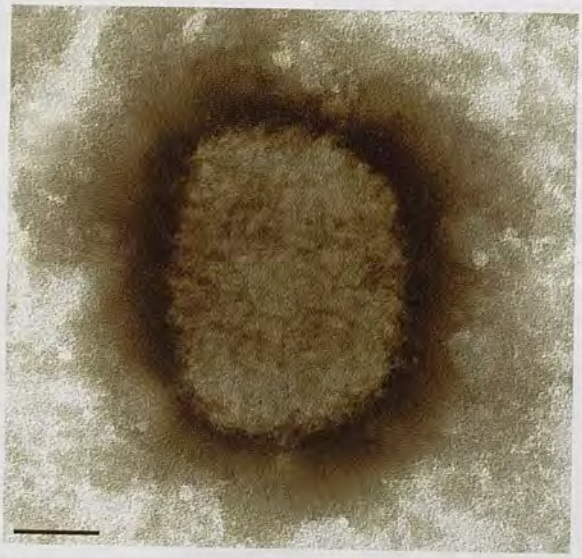
Desenvolvimento de metodologias para a detecção e caracterização molecular de vírus em casos de meningites e encefalites agudas – A etiologia de meningites e encefalites agudas constitui um difícil problema ao nível do diagnóstico laboratorial. A introdução de metodologias moleculares aplicadas diretamente a espécimens clínicos, como o líquor, tem permitido uma melhor definição dos agentes envolvidos e o Laboratório está aplicando estes métodos para pesquisa de herpes vírus tipos 1 e 2, citomegalovírus, vírus da caxumba e vírus Epstein-Barr.

Desenvolvimento de metodologias para a detecção e caracterização molecular de rotavírus

em casos de diarréia aguda em crianças – Os rotavírus constituem o mais importante agente de diarréia viral e uma vacina está sendo avaliada em vários países. Este projeto permitirá detectar e caracterizar molecularmente os rotavírus, objetivando a identificação de genótipos incomuns para se avaliar o impacto da introdução da vacina tetravalente anti-rotavírus (RRV-TV) e eventualmente sugerir a introdução de novos genótipos na vacina.

Núcleo de Retrovírus

Estudar a variabilidade genômica e a resistência do HIV-1 aos anti-retrovirais 3'-azido-3'desoxiti-midina e 2', 3'- dide-soxinosina em população pediátrica – O projeto prevê a análise, em população pediátrica com Aids em tratamento com zidovudina e/ou didanosina, da ocorrência de linhagens virais resistentes a estes quimioterápicos e outros inibidores da transcriptase reversa e a análise, em população pediátrica infectada por HIV-1 sem tratamento com anti-retrovirais, da ocorrência de linhagens virais resistentes aos inibidores da transcriptase reversa.



Orthopoxvirus humano, isolado no Departamento de Virologia de lesão cutânea. Fotomicrografia eletrônica de transmissão. Barra = 75 nm

Padronização de métodos moleculares para a avaliação da presença do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) e do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) em leite humano – O projeto visa padronizar e implantar métodos moleculares e de cultura celular para os vírus HTLV e HIV em leite humano, avaliando o grau de infectividade e replicação viral, bem como a freqüência do anti HTLV e do anti HIV em parturientes. Deve-se assinalar que métodos de detectar vírus em amostras de leite humano terão direta aplicação no controle da transmissão vertical das infecções por retrovírus.

Núcleo de Imunologia Viral

Estudos sobre a imunopatologia do dengue em casos clínicos e em modelo in vitro – A resposta imunológica que ocorre em infecções por dengue está diretamente relacionada à evolução do quadro clínico e sua avaliação se constitui em um dos temas mais importantes da pesquisa em dengue. O projeto em desenvolvimento no Núcleo, está estudando o papel de diversos componentes da resposta imune em pacientes e em modelos experimentais no laboratório.

PERSPECTIVAS DO DEPARTAMENTO

A virologia, neste final de século, experimentou uma grande expansão, em função do surgimento de várias viroses, antes desconhecidas, como HIV, hepatite C, Ebola, vírus de Marburg e os vírus Rocio e Sabiá, bem como a recrudescência de infecções conhecidas no passado como o dengue, acompanhando a disseminação de seus vetores. A par disso, a biologia molecular abriu para a virologia horizontes nunca antes imaginados, tanto nas fronteiras do conhecimento sobre a biologia dos vírus e sua replicação como na aplicação destes conhecimentos ao diagnóstico mais rápido e mais seguro de infecções e no desenvolvimento de imunizantes virais. No IOC esta expansão é igualmente identificada, de vez que pelo menos quatro departamentos têm projetos em virologia, contribuindo para o conhecimento das principais viroses que atingem nossa sociedade.

Em relação ao Departamento, a utilização de ferramentas de biologia molecular para o diagnóstico de infecções virais deverá se acentuar em busca de novas metodologias e sua implantação mais ampla possível nos laboratórios públicos. A nacionalização de kits de diagnóstico deverá igualmente ocorrer para as viroses de maior prevalência e importância e o Departamento deverá participar desses projetos. Os conhecimentos sobre a patogenia e a resposta imune nas infecções virais deverão igualmente evoluir fortemente pela utilização de novas metodologias de pesquisa de antígenos e ácidos nucleicos em espécimens clínicos e histopatológicos.

Deverão se expandir ainda a utilização da expressão gênica, estudos de ultra-estrututra e morfogênese viral em artrópodos e o uso de alguns modelos animais.

Considerando a densidade demográfica humana alcançada e suas projeções para os próximos anos, pode-se especular que as mutações virais, em especial dos vírus ribonucleicos, devem aumentar em função do crescente número de infecções humanas ocorrendo em relativo curto prazo. Esse fato exigirá um monitoramento laboratorial contínuo através da epidemiologia molecular com a análise dos vírus isolados, o que se pretende realizar no Departamento. Nesse aspecto uma vigilância epidemiológica de bom nível será essencial para o acompanhamento das tendências das infecções virais ao nível de população, sendo esta uma das grandes dificuldades a se enfrentar, considerando o que vem ocorrendo nos últimos anos. A melhora da vigilância em nível municipal talvez seja o melhor caminho a seguir.

O aumento da população de faixa etária mais elevada deverá influenciar a expansão de alguns campos da virologia, como as infecções respiratórias, em particular a influenza. As doenças transmitidas por artrópodos e roedores, em função da maior aproximação destes vetores com grandes aglomerados humanos, se tornarão mais importantes e exigirão uma maior participação do Departamento. Nesse aspecto torna-se oportuno recordar que neste momento não dispõe o país de nenhum laboratório de alta segurança ao nível de risco biológico 4, o que nos torna dependentes de laboratórios do exterior para a pesquisa de vírus de alta periculosidade. Por outro lado torna-se realmente fundamental que o IOC estruture seus laboratórios que manejam vírus de risco biológico de nível 3, o que permitirá a pesquisa da grande maioria dos vírus isolados no país em condições de segurança.

Não por último, espera-se, no próximo decênio, uma pós-graduação no IOC de excelente nível para atrair as novas gerações para a virologia, bem como a possibilidade de expansão de nosso quadro de pesquisadores e a existência de recursos para o desenvolvimento dos projetos propostos. Em virologia, como em muitas outras áreas da saúde, os recursos aplicados são investimentos de retorno seguro, se considerarmos os custos das epidemias por vírus e o impacto que causam sobre a sociedade.

DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA
CHEFE: *Hermann Gonçalves Schatzmayr*

LABORATÓRIO DE DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO EM VIROLOGIA
CHEFE: *Ana Maria Coimbra Gaspar*

Ana Maria Coimbra Gaspar	Pesquisador Titular
Cláudia Lamarca Vitral	Pesquisdor Visitante/Faperj
Marcelo Alves Pinto	Pesquisador Visitante/Faperj
Marli Sidoni	Tecnologista

LABORATÓRIO DE ENTEROVÍRUS
CHEFE: *Edson Elias da Silva*

Edson Elias da Silva	Pesquisador Titular
Eliane Veiga da Costa	Tecnologista
Silas de Souza Oliveira	Tecnologista

LABORATÓRIO DE FLAVIVÍRUS
CHEFE: *Rita Maria Ribeiro Nogueira*

Ana Maria Bispo de Fillipis	Pesquisador Associado
Eliane Saraiva M. de Araújo	Tecnologista
Hermann G. Schatzmayr	Pesquisador Titular
Marize Pereira Miagostovich	Pesquisador Associado
Rita Maria Ribeiro Nogueira	Pesquisador Titular

Laboratório de Hepatites Virais
Chefe: *Clara Fumiko Tachibana Yoshida*

Clara Fumiko Tachibana Yoshida	Pesquisador Titular
Cleber Ferreira Ginuino	Tecnologista
Elba Regina Sampaio de Lemos	Pesquisador Adjunto
Elisabeth Lampe	Pesquisador Adjunto
Jaqueline Mendes de Oliveira	Tecnologista
Kay Rispeter	Pesquisador Visitante/DAAD
Lia Laura L. X. de Souza Rodrigues	Pesquisador Visitante/Faperj
Luiz Antonio Chilelli Mercadante	Tecnologista
Márcia Leite Baptista	Pesquisador Adjunto
Maria de Lourdes A. de Oliveira	Tecnologista
Maria Lucia Pires da Silva	Tecnologista/Faperj

Laboratório de Ultra-estrutura Viral
Chefe: *Ortrud Monika Barth Schatzmayr*

Angela Teixeira Pinhão	Tecnologista
Luzia Monteiro de C. Côrtes	Tecnologista
Ortrud Monika Barth Schatzmayr	Pesquisador Titular
Selma Majerowicz	Pesquisador Associado

Laboratório de Virologia Comparada
Chefe: *José Paulo Gagliardi Leite*

Alexandre Madi Fialho	Tecnologista
José Paulo Gagliardi Leite	Pesquisador Titular
Monica Simões Rocha Ferreira	Tecnologista

Laboratório de Virologia Molecular
Chefe: *Selma de Andrade Gomes*

Christian Maurice Gabriel Niel	Pesquisador Titular
Eneida Santos de Almeida	Pesquisador Visitante/Faperj
Liane de Castro	Tecnologista
Selma de Andrade Gomes	Pesquisador Titular

Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo
Chefe: *Marilda Mendonça Siqueira*

Clovis José Pascarelli Souza	Tecnologista
Fabian Friedrich	Tecnologista
Marilda Mendonça Siqueira	Pesquisador Titular
Murilo M. Krawczuck	Tecnologista
Silvana A. Rodrigues Portes	Pesquisador Adjunto

Núcleo de Imunologia Viral
Chefe: *Claire Fernandes Kubelka*

Claire Fernandes Kubelka	Pesquisador Titular

Núcleo de Retrovírus
Chefe: *José Pascoal Simonetti*

José Pascoal Simonetti	Pesquisador Titular
Sandra Regina R. Simonetti	Tecnologista

DEPARTAMENTO DE ENSINO

HISTÓRICO

O ensino no Instituto Oswaldo Cruz 1900-1970

A criação do Instituto Soroterápico Federal de Manguinhos, em 1900, inaugurou a primeira infra-estrutura científico-tecnológica do país e deu início a uma longa tradição de formação de pesquisadores da área biomédica, hoje representada pelos programas de pós-graduação do Instituto Oswaldo Cruz (IOC).

O projeto de Oswaldo Cruz previa, desde seu início, a formação de uma instituição em que a tríade produção-pesquisa-ensino se fizesse presente. No seu relatório, de 1903, à frente da Diretoria Geral de Saúde Pública, do Ministério da Justiça e Negócios Interiores, Oswaldo Cruz defendia que, além de fabricar soros e vacinas, o Instituto deveria realizar todos os estudos científicos e preparar pessoal a quem pudesse ser confiada a missão de salvaguarda da saúde pública.

Assim, mesmo antes de concretizar a idéia de uma escola no Instituto, a participação de alunos da Faculdade de Medicina na vida do antigo Instituto Soroterápico era uma realidade cotidiana e já, em 1901, três desses alunos, Otávio Machado, Mário de Toledo e Oscar Araújo apresentaram teses apoiadas em seus trabalhos desenvolvidos no Instituto. O primeiro desenvolveu tese sobre etiologia e profilaxia da peste, o segundo sobre crioscopia e o terceiro sobre impaludismo.

É a partir de 1907, ano em que recebeu a denominação de Instituto Oswaldo Cruz, que os alunos egressos da Faculdade de Medicina passam a ter a oportunidade de freqüentar o "Curso de Manguinhos", denominado, então, Curso de Aplicação. Oswaldo Cruz inspirou-se no Instituto Pasteur para a criação do curso, mas em seu desenvolvimento, além da escola francesa, a Escola de Manguinhos também sofreu influências da escola alemã, através de Henrique de Beaurepaire Aragão, Henrique de Rocha-Lima e Alcides Godoy que fizeram sua formação em Berlim e, mais tarde, da escola suíço-alemã, com Adolpho Lutz, que diplomou-se em Berna.

Desde cedo, a Escola de Manguinhos, caracterizada como uma grande escola de medicina experimental, passa a ter uma procura intensa. Olympio da Fonseca Filho, ao tentar matricular-se para o curso de 1912, encontrou-o com todas as vagas preenchidas, tendo que adiar seu projeto de estudos para o curso de 1913/1914. É ele que nos revela as características do curso naquela época que tinha um programa amplo e rígido, desenvolvido ao longo de catorze meses ininterruptos, não se admitindo mais de dez faltas; apenas entre um terço e metade dos alunos que o iniciavam alcançavam as qualificações de freqüência e aproveitamento necessários para a diplomação.

Painel de Burle Max no Pavilhão Arthur Neiva

O quadro abaixo, também apresentado por Olympio da Fonseca Filho, nos dá conta das disciplinas que compunham seu currículo e dos professores responsáveis: Carlos Chagas, Antonio Cardoso Fontes, Adolpho Lutz, Arthur Neiva, Alcides Godoy, Gaspar Vianna e Henrique Figueiredo de Vasconcellos.

O Curso de Aplicação formou centenas de especialistas que vieram a integrar os quadros do próprio IOC e de outras instituições de pesquisa no Brasil e no exterior. O Instituto Biológico e o Instituto Butantan, em São Paulo, o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, em Manaus, e o Instituto Evandro Chagas, em Belém do Pará, são exemplos de instituições que se beneficiaram da colaboração de pesquisadores oriundos do curso. O Instituto de Biofísica, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, hoje importante núcleo de pesquisa e de difusão científica em vários campos das ciências biomédicas, foi fundado por antigo pesquisador do Instituto, Carlos Chagas Filho, também ex-aluno do Curso de Aplicação. Em grande parte, os países da América Latina enviaram pesquisadores para se especializarem em Manguinhos. A maioria, retornando a seus países de origem, formou importantes quadros nas instituições de pesquisa e ensino.

Apesar da importância e do sucesso na formação de pesquisadores alcançado pelas atividades de

INSTITUTO OSWALDO CRUZ – Programa do curso de 1913

1-Aparelhos e métodos gerais de investigação em microscopia e bacteriologia	GODOY
2-Micróbios em geral	FONTES
3-Técnicas das culturas, colorações. Experimentação em animais	VASCONCELLOS
4-Técnica histológica aplicada à microbiologia	VIANNA
5-Análise de ar, solo e água	FONTES
6-Grupo do carbúnculo	GODOY
7-Cocos:estafilococos, estreptococos, pneumococos, meningococos e gonococos. Exame de pús, exsudatos e transudatos	FONTES
8-Difteria e pseudo-difteria. Exame de falsas membranas	FONTES
9-Tuberculose, lepra, ácido-resistentes. Exame de escarro	FONTES
10-Peste. Septicemias hemorrágicas. Exame bacteriológico de sangue	VASCONCELLOS
11-Mormo	VASCONCELLOS
12- Grupo coli-tifo. Exame bacteriológico de urina	FONTES
13-Cólera e vibriões. Exame de fezes	GODOY
14-Anaeróbios (Tétano. Carbúnculo sintomático)	GODOY
15-Imunidade em geral. Teorias da imunidade	GODOY
16-Reações sorológicas aplicáveis ao diagnóstico: Wassermann e suas modificações. Bordet-Gengou	VASCONCELLOS
17-Técnica soroterápica. Preparo dos diferentes soros	VASCONCELLOS
18-Dosagem dos soros	GODOY
19-Antissépticos. Determinação de seu valor	FONTES
20-Cogumelos patogênicos. Actinomicose. Tinhas	VASCONCELLOS
21-Esporotricose e blastomicose	VIANNA
22-Protozoários em geral	CHAGAS
23-Amebas	CHAGAS
24-Flagelados. Tripanosomidas. Leishmanias. Piroplasma	CHAGAS
25-Moléstia de Carlos Chagas	CHAGAS
26-Esporozoários em geral. Impaludismo	CHAGAS
27-Ciliados parasitos	CHAGAS
28-Espiroquetas	CHAGAS
29-Clamidozoários. Germes filtráveis. Varíola. Febre amarela	CHAGAS
30-Animais transmissores de moléstias. Dípteros. Hemípteros. Sifonápteros	NEIVA
31-Animais venenosos e peçonhentos	NEIVA
32-Animais parasitos do Homem e de outros animais	LUTZ

ensino do IOC, em 1970, por ocasião da criação da Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz, o ensino deixa de ser uma prioridade. Com isso, o Curso de Aplicação foi extinto e repassado à Escola de Saúde Pública, então denominada Instituto Presidente Castello Branco, com a denominação de Curso de Iniciação à Pesquisa em Biologia, com duração de um ano, e que funcionou de 1970 a 1974, sofrendo posteriores reestruturações.

Embora os pesquisadores não tenham se distanciado completamente das atividades de ensino, colaborando sistematicamente com os cursos da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), é somente em 1980 que o Instituto retoma a formação de pesquisadores como uma de suas atribuições fundamentais, ao receber os alunos transferidos dos cursos de Virologia e Parasitologia da ENSP, dando início ao programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biologia Parasitária.

O ensino no Instituto Oswaldo Cruz 1980-2000

A filosofia de Oswaldo Cruz – integrar pesquisa e ensino para o enfrentamento dos principais problemas de saúde pública – norteou a retomada das atividades de ensino no IOC. Os programas desenvolvidos hoje no Instituto foram implantados a partir de 1980, expandiram-se na década seguinte e consolidaram-se com lugar de destaque no atual sistema de pós-graduação do país. Todos os programas de pós-graduação *stricto sensu* do Instituto auferiram conceito A nas avaliações realizadas pela Capes.

Nas últimas décadas, as atividades de ensino expandiram-se e, além da formação de pesquisadores, o Instituto voltou-se também para a formação de técnicos de pesquisa e de especialistas.

O Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biologia Parasitária deu início a esta nova fase do ensino no IOC, em 1980, com a criação do Curso Básico em Biologia Parasitária com saída para o mestrado em várias áreas de concentração correspondentes aos departamentos do Instituto, inclusive em medicina tropical que, a partir de 1984, passou a desenvolver um mestrado específico. O Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular foi criado em 1989. O curso de formação de técnicos de pesquisa em biologia parasitária teve início em 1981 e, na última década, foram criados os cursos de especialização em entomologia e em malacologia.

Os atuais programas de ensino do IOC têm como característica fundamental a sua integração direta e imediata com a pesquisa. Os pesquisadores compõem o quadro de docentes dos diferentes cursos desenvolvidos e recebem os alunos em seus laboratórios para o desenvolvimento das monografias, dissertações e teses, que habitualmente configuram-se como um acréscimo aos conhecimentos produzidos nas diferentes linhas de pesquisa desenvolvidas pelos departamentos. O Instituto oferece anualmente cerca de 150 disciplinas envolvendo mais de cem pesquisadores em sua coordenação.

Programas de pós-graduação *stricto sensu*

O Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biologia Parasitária, foi inicialmente estruturado em duas fases. A primeira, constituída por um curso com áreas de concentração em virologia e parasitologia, evoluiu, em 1980, para um curso denominado Curso Básico, com duração de um ano, com uma grade curricular abrangente, contemplando os conhecimentos fundamentais de microbiologia, parasitologia, imunopatologia e epidemiologia. Esse curso tinha caráter terminal e ao mesmo tempo era requisito para a segunda fase do programa, o mestrado propriamente dito. Em 1992, o Programa de Biologia Parasitária, que visava à formação de pesquisadores para a pesquisa básica, e já havia titulado cerca de cem mestres, evoluiu para a implantação de seu curso de doutorado. O curso conta com as seguintes áreas de concentração: bacteriologia, biologia, biologia celular, biologia molecular, controle de artrópodes vetores, ecologia, entomologia, helmintologia, imunologia, malacologia, micologia, patologia, protozoologia e virologia.

O Programa de Medicina Tropical, voltado prioritariamente para a formação de pesquisadores em epidemiologia clínica e experimental, teve seu curso de mestrado implantado em 1984, também tendo o Curso Básico como pré-requisito. O curso de doutorado em Medicina Tropical foi implantado em 1987.

Em 1989, visando formalizar as atividades de ensino da área de biologia celular e molecular que já vinham sendo desenvolvidas no interior dos outros cursos e mesmo em cursos de outras instituições, foi implantado o terceiro Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* do Instituto, constituído pelos cursos de mestrado e doutorado em Biologia Celular e Molecular que trabalha com as seguintes áreas de concentração: bac-

teriologia, biologia celular, biologia molecular, genética molecular, imunologia, ultra-estrutura e virologia. Neste mesmo ano, o Curso Básico foi extinto e suas disciplinas foram incorporadas pelos programas de pós-praduação *stricto sensu*.

Programas de pós-graduação *lato sensu*

O Curso de Especialização em Entomologia Médica foi implantado em 1993 e tem como objetivo o aperfeiçoamento de pesquisadores e docentes nas áreas de concentração de entomologia e acarologia.

O Curso de Especialização em Malacologia foi implantado em 1994 e, com uma perspectiva multidisciplinar, visa à formação de recursos humanos capazes de atuarem na elaboração e execução de estratégias de controle de moluscos de importância médica. O curso tem um caráter de treinamento em serviço e enfatiza o estudo dos moluscos vetores da esquistossomose e de outras helmintoses de interesse médico e veterinário.

Ambos os cursos são dirigidos, preferencialmente, a profissionais de órgãos governamentais como a Fundação Nacional de Saúde e secretarias estaduais e municipais de saúde, entre outros.

Formação de técnicos de pesquisa

Curso Técnico

O Curso Técnico de Pesquisa em Biologia Parasitária objetiva a formação profissional de técnicos para a pesquisa básica e aplicada na área das ciências biomédicas.

O curso foi instituído em 1981, com duração de dois anos. Os egressos do Curso Técnico são reconhecidos como possuidores de alta qualificação técnica; muitos foram admitidos por concurso público em diversas instituições de pesquisa e ensino, como a Uerj, o Inca, a UFRJ e a própria Fiocruz, entre outras. Além disso, esse é um dos poucos senão o único curso no país destinado à formação de técnicos com esse perfil.

A integração pesquisa-ensino também é característica fundamental desse curso. Após concluírem as disciplinas ministradas por pesquisadores, através de aulas teórico-práticas, os alunos passam por períodos de estágio de longa duração nos laboratórios dos diversos departamentos do IOC e de outras unidades da Fiocruz.

Especialização de nível técnico

Em função da reforma do ensino médio, introduzida pela nova Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional, prever a estruturação de cursos de especialização de nível técnico e pelo fato de o programa e duração do curso de formação de técnicos do IOC formar profissionais que de fato se especializavam em determinadas áreas ao longo do segundo ano do curso, o Instituto empreendeu uma restruturação na formação de técnicos.

A partir do ano 2000, o curso de formação de técnicos passa a ter um ano de duração e são oferecidos dois cursos de especialização de nível técnico em biologia parasitária e em biotecnologia com áreas de concentração em animais de laboratório, bacteriologia, biologia animal, biologia molecular, biologia vegetal, cultura de células, experimentação animal, fármacos, helmintologia, hemoterapia, imunologia, malacologia, micologia, microscopia eletrônica, patologia clínica, protozoologia, vetores e reservatórios, e virologia.

Outras atividades de ensino

Diversas outras atividades de ensino envolvendo diferentes instituições e clientelas também são desenvolvidas no IOC, além dos programas formais continuados. Essas atividades ocorrem a partir de demandas e projetos específicos, como, por exemplo, o do curso de atualização de professores de biologia da rede pública de ensino médio (Projeto Fiocruz/Faperj), o treinamento de funcionários da Comlurb sobre vetores, ou através de colaborações solicitadas, como o treinamento em diagnóstico de malária para a Força de Paz do Exército Brasileiro em Angola, ou aulas introduzindo noções de bacteriologia e virologia para o Curso de Especialização em Defesa Química, Biológica e Nuclear para oficiais do Exército.

Gestão do ensino

A partir de 1980, com o processo de departamentalização do IOC, foram criadas instâncias de coordenação e gestão das atividades de ensino e de deliberação acerca das questões relacionadas ao ensino e à criação de cursos. São elas a Coordenação dos Cursos da Área de Pesquisa, mais tarde denominada Departamento de Ensino, e a Câmara Técnica de Ensino que é assim constituída: Pedro Hernán

Cabello Acero (vice-diretor do IOC), presidente; Delir Corrêa Gomes Maués da Serra Freire; Marcio Neves Boia; Mariza Velloso Fernandez Conde; Ricardo Lourenço de Oliveira; Samuel Goldenberg; Sylvio Celso Gonçalves da Costa; José Marcelo Ramalho Ortigão (representante dos alunos).

Os programas de pós-graduação, especialização e técnico têm as seguintes coordenações: Biologia Celular e Molecular: Samuel Goldenberg; Biologia Parasitária: Ricardo Lourenço de Oliveira; Biologia Parasitária Institucional: Sylvio Celso Gonçalves da Costa; Medicina Tropical: Marcio Neves Boia; Especialização em Entomologia: Rubens Pinto Mello/Anthony Érico Guimarães; Especialização em Malacologia: Silvana C. Tiengo/Tereza Favre; Técnico de Pesquisa em Biologia Parasitária: Maria Regina Reis Amendoeira.

O Departamento de Ensino, situado no Pavilhão Arthur Neiva, conta com vinte profissionais que se distribuem entre as diversas secretarias acadêmicas dos cursos e o Laboratório de Produção e Tratamento de Imagens. Este Laboratório possui uma moderna estação de tratamento de imagens científicas e utiliza formas de impressão de alta tecnologia a partir de equipamentos como vídeo-microscópios, impressoras de sublimação e scanners de alta resolução. As imagens, produzidas a partir de microscópios ópticos, eletrônicos e confocal, são trabalhadas no Laboratório para inserção em trabalhos científicos e teses de pesquisadores e alunos do Instituto e de outras unidades da Fiocruz.

O Instituto oferece, anualmente, cerca de 150 disciplinas e tem tido uma média de 500 alunos ativos nos últimos anos. O Departamento conta com bancos de dados para gerenciar dados sobre os alunos matriculados e as disciplinas oferecidas.

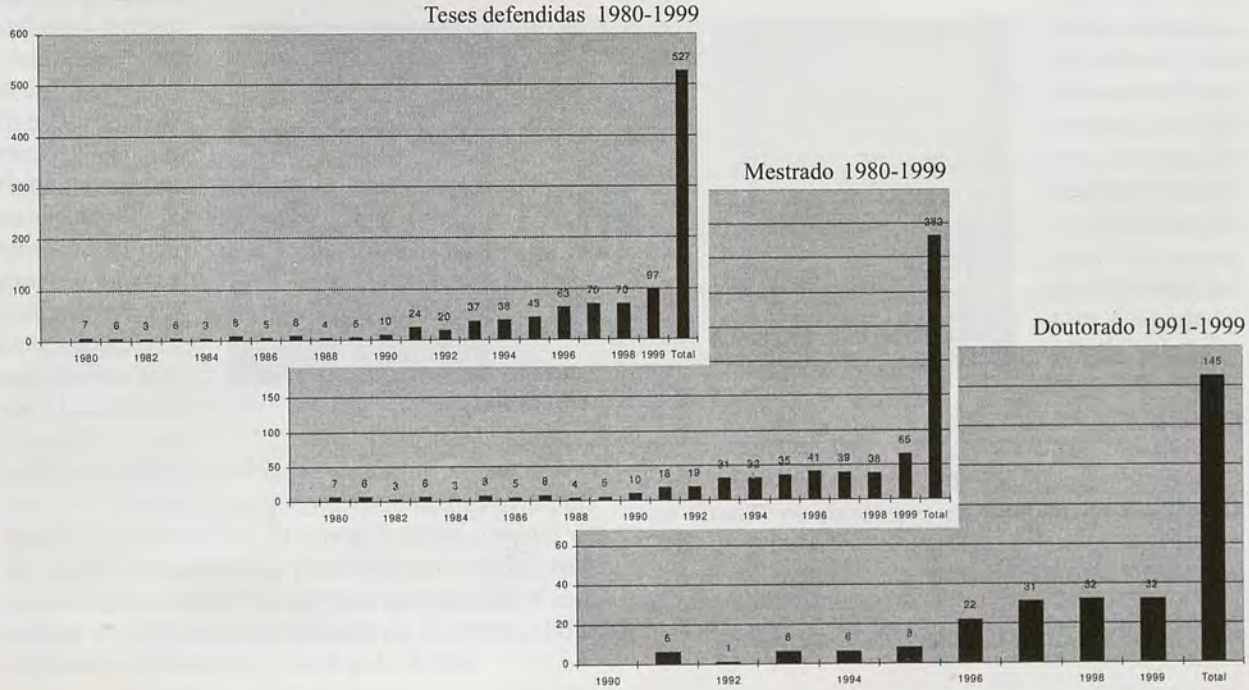
Quanto à infra-estrutura física, o Departamento conta com quatro salas de aulas com bancadas, um auditório e um laboratório de informática, além de três laboratórios, em fase de estruturação, para alunos. Em grande parte, as atividades didáticas são desenvolvidas nos próprios laboratórios de pesquisa dos departamentos do Instituto. A partir do ano 2000 estão ainda previstos mais um auditório e três salas de aulas.

Teses defendidas

As teses desenvolvidas no IOC versaram sobre: 1) busca de novos métodos diagnósticos das doenças infecciosas e parasitárias, ou aprimoramento de métodos existentes; 2) investigação de novos conhecimentos que possam subsidiar futuras formas de controle/prevenção dessas doenças, através de controle de vetores ou desenvolvimento de vacinas; 3) padronização, validação e testagem de vacinas; 4) identificação e caracterização de cepas de patógenos; 5) ação farmacológica de produtos naturais; 6) busca de novos agentes terapêuticos, entre outras.

Os principais problemas de saúde abordados nas teses foram: agravos causados por animais peçonhentos; doença de Chagas; cólera; criptococose; dengue; doenças diarreicas; enteroviroses; esquistossomose; hanseníase; hepatite; helmintíases; histoplasmose; HIV; leishmaniose; malária; meningites e encefalites; parvovirose; raiva; toxoplasmose e tuberculose.

A evolução do número de teses defendidas no IOC pode ser observada nos gráficos abaixo:



DEPARTAMENTO DE ENSINO

CHEFE: *Mariza Velloso Fernandez Conde*

Anderson Alexandre Pereira dos Santos	Técnico de áudio e vídeo
Anísia D'arc do N. Bhraim	Assistente em C&T
Anselmo Gomes de Araújo	Técnico
Cleide de Almeida Souza	Secretaria Acadêmica
Dalton Cerqueira da Costa	Assistente em C&T
Eliete Teixeira Perez	Secretaria Acadêmica
Fabiola Simões Ferrari	Secretaria Departamento
Fernando Alberto Gruenbaun	Analista em C&T
Genilton José Vieira	Analista em C&T
Heloísa Maria Nogueira Diniz	Analista em C&T
Mariza Velloso Fernandez Conde	Analista em C&T
Micheli da Silva Freitas	Secretaria Acadêmica
Mônica Márcia Martins de Oliveira	Assistente em C&T
Paulo Márcio Moreira	Programador visual
Regina Caldeira Petri	Assistente em C&T
Rodrigo da Cunha Mexas	Fotógrafo
Ronei Lima	Programador visual
Rosemeri de Melo Souza	Operadora xerox
Vanir Quintanilha Lamarão	Contínuo

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

HISTÓRICO

A Revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* foi criada pelo decreto 1.812, de 12 de dezembro de 1907, quando foi fundado o Instituto de Patologia Experimental de Manguinhos. Este decreto determinava em seu artigo 1, parágrafo 9, que os estudos provenientes do Instituto de Manguinhos seriam publicados, a título de "memórias", à medida que as experiências se confirmassem. As *Memórias* seriam distribuídas pelas escolas profissionais de medicina, de veterinária e de agricultura, existentes no país, e permutadas com as publicações estrangeiras do mesmo gênero.

As *Memórias* eram, a princípio, uma revista tipicamente institucional, no sentido de desempenhar o papel de arquivo da produção científica da Instituição que a editava. Assim, em 1923 aparece, logo após o sumário, a informação de que as *Memórias* seriam reservadas exclusivamente para a publicação de trabalhos originais realizados no Instituto.

Como não havia, na Instituição, quem pudesse cuidar da implantação da revista, Oswaldo Cruz tomou a si todo o trabalho, ficando responsável pela escolha de máquinas impressoras, seleção dos tipos, encomenda do papel, entendimento com litógrafos e especialistas em clichês, seleção de tradutores e revisão das provas. Quando, por qualquer motivo, precisava ausentar-se, passava a tarefa a Adolpho Lutz que igualmente primava pela qualidade da Revista. O envolvimento pessoal de Oswaldo Cruz também se respaldava no regulamento que determinava que só poderiam ser publicados com o nome e sob a responsabilidade do Instituto os trabalhos que fossem aprovados pelo diretor.

Primeiro tomo das *Memórias*

Para atender ao critério de qualidade exigido pelo regulamento da Revista, o Instituto instalou sua própria tipografia, onde as *Memórias* foram impressas de 1909 a 1940, quando, por decreto, a Imprensa Nacional passou a ser a responsável pela execução de todos os trabalhos gráficos das repartições federais.

O primeiro fascículo, tomo I, foi publicado em abril de 1909, contendo cada artigo um texto em português e outro em francês, inglês ou alemão, à vontade do autor, para torná-lo acessível a leitores estrangeiros, desconhecedores do nosso idioma. No segundo fascículo foi publicado o artigo *Nova tripanozomiaze humana*, da autoria de Carlos Chagas, com versão em alemão.

As *Memórias* inicialmente publicavam um tomo por ano, podendo variar, de um a cinco, a quantidade de fascículos em um mesmo tomo. Quebrando a seqüência de um tomo por ano, em 1922, 1930, 1934, 1943, 1944 e 1945 foram publicados dois tomos anuais. Em 1996 passaram a ser publicados seis fascículos por volume.

O primeiro suplemento das *Memórias* data de 1928/1929, contendo diversos trabalhos, sem demonstrar, entretanto, relação com eventos de qualquer natureza. Sem qualquer justificativa, os suplementos foram suspensos, sendo reiniciados em 1984, sempre ligados a um acontecimento científico determinado. Como exemplo podem ser citados os simpósios em homenagem a Carlos Chagas, Hugo de Souza Lopes, Lauro Travassos, sobre malária, imunomoduladores, insetos, esquistossomose, pragas e vetores, farmacologia e produtos naturais, matriz extracelular, eosinofilia, entre

outros, bem como aqueles que reproduzem as reuniões sobre pesquisa básica em doença de Chagas.

Se a princípio as *Memórias* publicavam exclusivamente trabalhos originários do Instituto, em 1956 o advérbio "exclusivamente" foi substituído por "precipuamente"; em 1959 ficava explícito que a Revista era destinada à divulgação de trabalhos de pesquisa original, elaborados por membros do corpo científico da Instituição, excepcionalmente incluindo colaboração de autores alheios ao Instituto.

Em 1980, já em sua fase moderna, as *Memórias* passaram a publicar trabalhos de outras instituições nacionais e estrangeiras com a condição de que fossem originais, de bom nível e se pautassem nas normas de publicação da Revista.

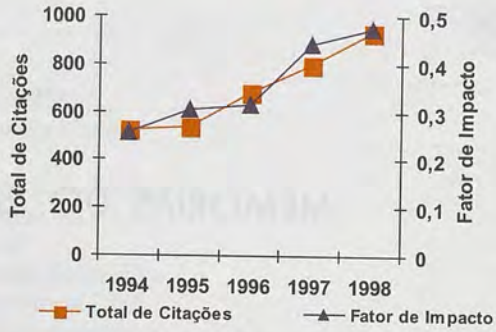
Foi nessa época que se passou a contar com a figura do Editor, pois até então esse papel havia sido desempenhado de diferentes formas: de 1909 a 1959, tudo indica que se tivesse um diretor; de 1959 a 1964 contou-se com um redator-secretário das publicações; de 1965 a 1975 houve uma comissão de redação, composta por dois a cinco pesquisadores; em 1976 o cargo passou a ser de "assessoria editorial"; em 1980 surge a denominação editor, que até 1984 era função do diretor do Instituto, que passou a contar com a colaboração de um Conselho Editorial; a partir de 1985, o cargo de editor passou a ser ocupado por um pesquisador independente; política essa que perdura até os dias atuais.

Atualidade

Em 1999 a Revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* completou noventa anos de publicação. Para qualquer revista científica isso já significaria uma conquista; se considerarmos que durante esse período as *Memórias* foram publicadas e distribuídas no Brasil, distante dos maiores centros internacionais de pesquisas, o feito se torna ainda mais significativo.

Durante esses noventa anos, procurou-se aprimorar e fazer com que a Revista atingisse um alto padrão de qualidade, o que a mantém indexada nos melhores bancos de dados do mundo. Atualmente encontra-se entre as revistas mais citadas na área de medicina tropical (quinto lugar) e dentre as mais citadas da América Latina, englobando todas as áreas de conhecimento, ocupa os primeiros lugares.

Além da preocupação com a qualidade do conteúdo dos trabalhos publicados em suas páginas, procurou-se também encurtar o tempo decorrido entre o recebimento de um manuscrito e sua publicação



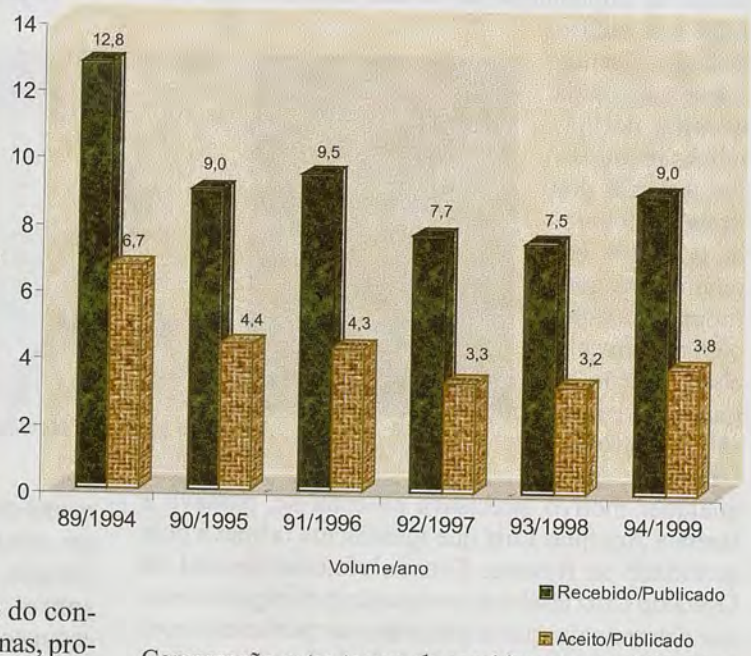
Fator de impacto e total de citações da Revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* entre 1994 e 1998 (Fonte: *Journal Citation Report on CD-ROM-1998 Science Edition*)

e, em especial, entre a aceitação e a publicação do mesmo.

Foi feito um levantamento dos últimos cinco anos e chegou-se ao seguinte resultado: a média de tempo decorrido entre o recebimento de um manuscrito e sua publicação caiu de 12,8 meses para 9 meses e o tempo médio entre a aceitação de um artigo e sua publicação passou de 6,7 meses para 3,8 meses.

Para que os resultados mencionados fossem atingidos, a Revista passou, em 1994, a ser produzida "em casa", ou seja, todo o processo de editoração passou a ser executado dentro da Instituição, ficando somente a parte de impressão e acabamento a cargo de terceiros. Além dos ganhos de tempo e custo, ganhou-se também em qualidade, pois foi criada uma

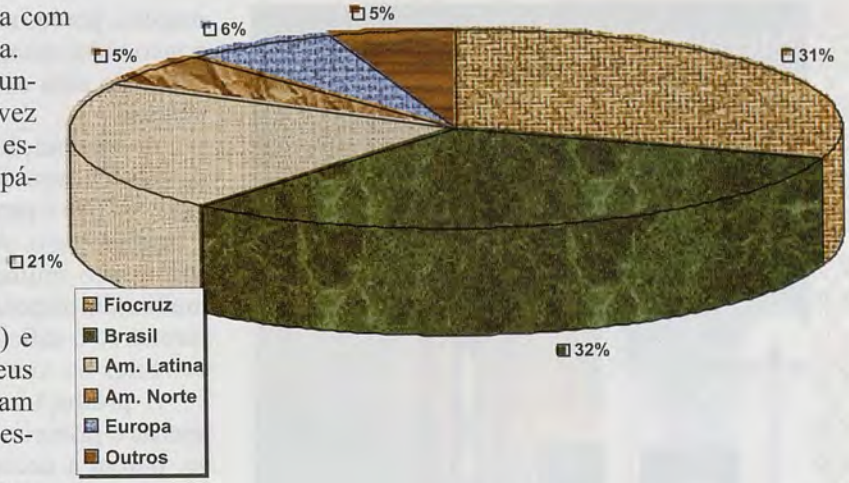
Quadro comparativo



Comparação entre tempo de recebimento e publicação e tempo de aceitação e publicação dos trabalhos recebidos

equipe de produção mais engajada com o processo de busca da excelência.

O resultado desse esforço conjunto pode ser visto na procura, cada vez maior, de autores estrangeiros por espaço para publicar seus artigos nas páginas das *Memórias*. Em 1999 foi publicado um número recorde de artigos completos e notas prévias em seus números regulares (158), além dos artigos (29) e resumos (484) publicados em seus suplementos. Os manuscritos foram enviados de 27 países diferentes nesse último ano.



Atualmente a distribuição da Revista é feita através de acordos de permuta com publicações congêneres, assinaturas e doações feitas a instituições públicas e bibliotecas nacionais e de países em desenvolvimento.

Apesar de sua tradição, as *Memórias* foram pioneiras no desenvolvimento de uma publicação online dentre as revistas científicas dos países em desenvolvimento. Hoje mantém um site moderno onde se pode acessar o conteúdo completo da Revista, além da possibilidade de se fazer o download no formato .PDF, sem qualquer custo para o usuário. Além disso, o web-site oferece informações atualizadas sobre congressos, cursos e eventos relacionados com a área de conhecimento da Revista; instruções para publicação; lista dos membros do corpo editorial e links para outros sites com informações correlatas.

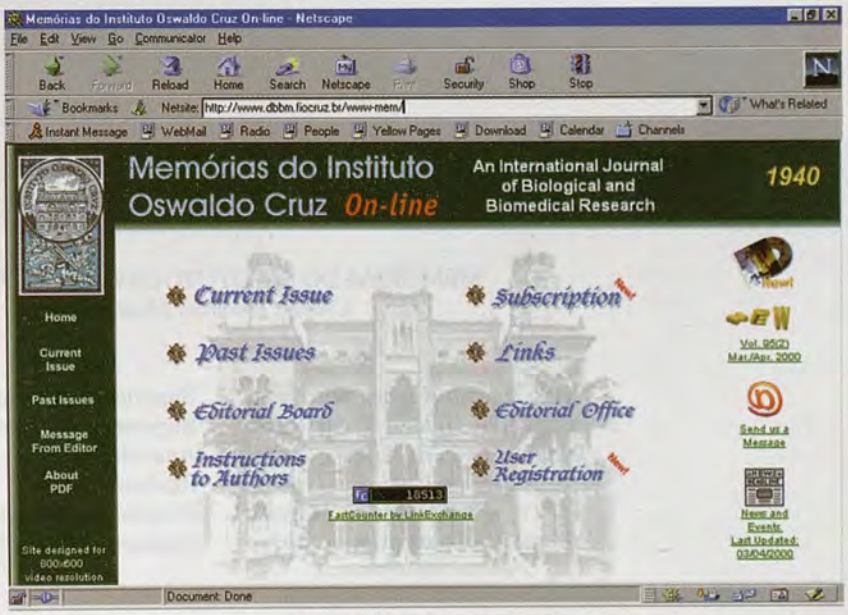
Além deste, outro site foi desenvolvido em parceria com a biblioteca virtual SciElo, de onde também pode ser acessada a página da Revista. Os endereços eletrônicos para o acesso são www.scielo.br/memorias.htm, www.pobox.com/~memorias e www.bioline.bdt.org.br/oc.

Em 1999, em comemoração aos noventa anos da Revista, foi lançado um CD-ROM contendo os títulos de todos os artigos publicados pelas *Memórias*, desde sua fundação em 1909, bem como os textos completos e as ilustrações de todos os artigos desde 1997 até 1999, inclusive. O CD conta com uma ferramenta de busca para ser utilizada nos textos dos artigos.

PERSPECTIVAS

Com a chegada do novo milênio, novos desafios vão se delineando. Com a globalização do mundo moderno, novos esforços deverão ser feitos para que a Revista mantenha a qualidade que permite sua concorrência com as revistas do primeiro mundo e acompanhe as inovações do mundo editorial.

Para os padrões atuais, as *Memórias* vêm publicando seus artigos com uma velocidade bastante aceitável; porém a rapidez que a internet vem propiciando à troca de informações faz com que, a médio prazo, mudanças precisem ser feitas no processo editorial da Revista. A forma de recebimento dos manuscritos, a troca de correspondência com autores e conselheiros, a forma de obter os pareceres, etc. deverão ser alteradas, permitindo que os trâmites administrativos ocorram com uma velocidade bem maior que a atual.



Home page das *Memórias*

Capa do CD-ROM das *Memórias*

Um outro aspecto que também adveio com a internet foi a possibilidade de os autores disponibilizarem seus textos na rede internacional de informações sem a necessidade do crivo editorial. Isso possibilita uma maior rapidez na divulgação de informações, porém não impede que textos ruins ou de pouco valor científico sejam "despejados" na rede, deixando para os leitores a seleção do material divulgado.

A distribuição gratuita de informações através da rede é outro desafio para as revistas impressas, uma vez que o processo de produção, além de lento, é bastante caro. As *Memórias* têm que, através de sua versão online, utilizando-se dos recursos de multimídia disponíveis, tornar o seu site atrativo e informativo o suficiente para competir com suas concorrentes no mercado.

A produção do CD-ROM das *Memórias* foi apenas o primeiro passo em direção a esse progresso, porém a necessidade de atualização constante desse veículo de informação é imprescindível.

Os canais virtuais de informação, *E-print Archive, PubMed Central, E-biosci, Pub Scientist,* SciELO, têm sido, até o momento, aliados no que se refere à divulgação online das revistas de qualidade, porém esses mesmos canais, para onde os autores terão possibilidade de enviar diretamente seus arquivos para disponibilização na rede internacional, poderão, com o tempo, se tornar concorrentes das próprias revistas. Caberá, então, às mesmas encontrarem seu nicho na era digital, onde os leitores poderão obter informações confiáveis e os autores receberão tratamento profissional para seus manuscritos.

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CHEFE: *Hooman Momen*

Geiza Helena Ribeiro das Neves	Suporte administrativo
Gisele Helena R. das Neves	Suporte administrativo
Luciane de C. B. Willcox Soares	Analista em C&T
Marly de Carvalho Willcox	Revisora
Paulo Márcio Moreira	Programador visual
Wanilda Blandy Nunes Correa	Assistente em C&T