

## EPIDEMIOLOGIA E PROFILAXIA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS (\*)

DR. FRANCISCO A. CARDOSO

Assistente de Higiene

(Professor catedrático: Dr. G. H. de Paula Souza)

Estudaremos, na aula de hoje, a epidemiologia e profilaxia da moléstia de Chagas. Vamos nos ater principalmente a êsses dois aspectos do problema, não tratando, senão de modo accessório, de assuntos que constituem o objeto de outras cadeiras da Faculdade, como por exemplo a clínica, a anatomia patológica e outros.

Duas são as tripanosomoses humanas conhecidas até o presente: a tripanosomose africana e a tripanosomose americana, que tomam essas designações dos continentes onde existem, respectivamente, África e América. Apenas nos apresenta interêsse imediato a tripanosomose americana, visto como a outra, a moléstia do sono, é privativa do continente africano. Assim sendo, limitemos o nosso estudo à tripanosomose americana.

### SINONÍMIA

As denominações comumente usadas para a moléstia que ora nos ocupa são: tripanosomose ou tripanosomíase americana e moléstia de Chagas, representando esta última justa homenagem à memória do seu descobridor. Outras designações atualmente se tornaram obsoletas ou impróprias e apenas merecem consignadas. São elas: moléstia de Cruz e Chagas, doença do "barbeiro", tireoidite parasitária, etc.

### HISTÓRICO

Veremos, com alguns pormenores, a história das principais etapas que resultaram no esclarecimento das diferentes questões atinentes à moléstia, porque êsse retrospecto se nos apresenta cheio de ensinamentos, fazendo ressaltar a obra genial dêsse grande investigador patricio que foi o Professor Carlos Chagas.

(\*) Aula dada aos alunos do 5.º ano da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (1940).

Em 1907, o Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz, diretor do Instituto Oswaldo Cruz, encarregou o assistente dêsse Instituto, Dr. Carlos Chagas, de realizar uma campanha anti-palúdica, no norte do Estado de Minas Gerais, zona em que se construía o prolongamento da Estrada de Ferro Central do Brasil. Nessa região, foi Chagas informado da presença de um inseto hematófago domiciliar, vulgarmente chamado “barbeiro”, que infestava as habitações toscas dos moradores do lugar. Encontrava-se o “barbeiro”, em maior abundância, nas casas de pau a pique, de paredes não rebocadas. O inseto ocultava-se nos inumeráveis orifícios e frinchas das paredes e do teto, de onde saía, em grande número, após o apagar das luzes, para exercer o seu hematofagismo, picando os indivíduos, durante o sono.

Teve Chagas (1) a idéia de examinar o conteúdo intestinal de alguns dêsses hemípteros, encontrando, nesse material, a presença de numerosos protozoários flagelados, com a morfologia de critídia. Enviou, então, alguns dêsses insetos para o Instituto Oswaldo Cruz, onde Cruz fê-los picar um macaco, *Callithrix penicillata*. Após 20 ou 30 dias, Chagas (1) (2) verificou a presença de numerosos tripanosomas, no sangue periférico dêsse macaco. Esse tripanosoma apresentava morfologia inteiramente diferente das espécies até então conhecidas, do gênero *Trypanosoma*.

Em pesquisas logo depois realizadas, determinou Chagas (1) a capacidade infectante dêsse tripanosoma não só para macacos do gênero *Callithrix* como para cobaias, coelhos e pequenos cães.

O novo tripanosoma foi denominado, por Chagas (1), *Trypanosoma cruzi*, em homenagem a Oswaldo Cruz.

Encorajado por êsses resultados, voltou Chagas à mesma região do Estado de Minas Gerais, com o fito principal de procurar o hospedeiro vertebrado do tripanosoma recém-descoberto. Examinando o sangue de um gato pertencente aos moradores de uma casa em que abundavam os “barbeiros”, encontrou o mesmo hemoflagelado (Chagas, 1). Nessa mesma casa, dias após, pelo exame a fresco do sangue de uma criança febril, com sinais de infecção aguda, encontrou grande número de flagelados, que puderam ser facilmente identificados aos que haviam sido transmitidos aos animais de laboratório, pelo “barbeiro” (Chagas, 1).

Estava assim diagnosticado, pela primeira vez, um caso humano de tripanosomose americana. Chagas continuou seus estudos, esclarecendo muitos aspectos da nova doença. A êle são devidas as noções básicas sobre a histopatologia, a sintomatologia e as formas clínicas dessa moléstia.

Com a publicação, em 1909, do trabalho de Chagas (1) — “Nova tripanozomíaze humana” — em que êle expõe os magníficos resultados das suas primeiras investigações, nasceu um capítulo até então inédito na patologia tropical.

Digno de registo é o fato, que nos parece ímpar não só na medicina brasileira senão mesmo na medicina mundial, de haverem sido

descobertos e estudados, por um único investigador, o agente etiológico de uma moléstia humana até então desconhecida, o agente vector, os mais importantes reservatórios do virus, os principais sintomas e a evolução geral dos seus processos patogênicos. Esse investigador foi Carlos Chagas. Cabe-lhe o mérito de ter sido, dentre os sábios brasileiros, aquele cuja contribuição original para a ciência foi maior e mais importante. Essa, a sua gloria inalienável, que se reflete sobre toda a medicina brasileira.

### ETIOLOGIA

A moléstia de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909. Pertence este protozoário ao *sub-phylum Plasmodroma*, classe *Mastigophora*, sub-classe *Zoomastigina*, ordem *Protomonadida*, sub-ordem *Eumonadea*, família *Trypanosomidae*.

**Nomenclatura** — Questão que tem sido discutida é saber-se qual a denominação correta do protozoário causador da moléstia de Chagas. Chagas, a princípio, considerou-o como devendo ser incluído no gênero *Trypanosoma* Gruby 1843, denominando-o *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909. Pouco depois, criou, para êle, o gênero *Schizotrypanum* Chagas 1909, baseando-se na existência de multiplicação esquizogônica (Chagas, 1), o que se verificou, entretanto, mais tarde, não existir.

Desde essa época as opiniões se separaram em dois campos opostos, quanto à nomenclatura do protozoário em questão. Autores como Wenyon (3), Hoare (cit. p. Dias, 4), Brumpt (5), Talice e cols. (6), incluem-no no gênero *Trypanosoma*, enquanto que outros, como Mazzà e Dias, consideram-no como gênero *Schizotrypanum*. Merecem registro os estudos feitos sobre a debatida questão por Dias (4) (7), que optou, finalmente, pelo gênero *Schizotrypanum*.

**Morfologia** — A morfologia do *Trypanosoma cruzi* difere, segundo nós o considerarmos no organismo dos vertebrados em geral ou no organismo do invertebrado, inseto vector. Esta, nós a veremos mais tarde, ao estudarmos o agente vector da moléstia; limitar-nos-emos, no momento, à morfologia do protozoário no sangue circulante ou nos tecidos do homem e vertebrados em geral.

No sangue circulante dos vertebrados parasitados, o *Trypanosoma cruzi* se apresenta como um protozoário de corpo alongado, curvo, com um núcleo central, quinetonúcleo sub-terminal, junto à extremidade posterior. O quinetonúcleo, ovoide, relativamente grande, constitui uma das formações mais características do *Trypanosoma cruzi*. A membrana ondulante é estreita e levemente ondulada. O flagelo representa cerca de um terço do comprimento total do protozoário, que oscila em torno de 20 micra. O protozoário pôde revestir dois aspectos diferentes: no primeiro, êle se apresenta delgado, longo, de núcleo alongado e movimentos muito rápidos; no segundo, vemos

formas mais largas, de protoplasma abundante, núcleo ovoide e movimentos mais lentos. Chagas (1) havia interpretado êste dimorfismo com a expressão de uma diferenciação sexual. Tal hipótese não foi confirmada ulteriormente. Alguns autores são acordes em considerar as formas delgadas como elementos mais jovens, que originariam as formas largas, adultas (Torres, 1918, cit. p. Dias, 8 e Dias, 8).

Os tripanosomas não se dividem no sangue. Sua multiplicação se dá dentro das células dos tecidos do organismo; o tripanosoma, no seu estágio intra-celular, perde a membrana e o flagelo e se transforma num organismo arredondado ou ovoide, de cerca de 4 micra de diâmetro — a leishmânia. As leishmânias se multiplicam e delas se originam, finalmente, os tripanosomas do sangue, passando pelo estágio intermediário de critídia. As critídias — formas intermediárias — caracterizam-se por terem flagelo livre e membrana ondulante, estando o quinetonúcleo situado entre o núcleo e a extremidade anterior.

**Culturas** — Culturas e sub-culturas de *Trypanosoma cruzi* podem ser obtidas em meios artificiais, como os de Noguchi, N. N. N., Ponselle, etc. No Instituto de Higiene de São Paulo empregamos o meio de Bonacci (fórmula IV), com os melhores resultados. Nas culturas, reveste o tripanosoma todos os aspectos morfológicos constitutivos do seu ciclo.

### RESERVATÓRIOS DE VIRUS

Além do homem, outros vertebrados podem ser encontrados naturalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. Desempenham o papel de verdadeiros reservatórios de virus. Vem a pêlo lembrar que, antes mesmo da descoberta do primeiro caso humano, Chagas (1) encontrou um gato naturalmente infectado. O cão é outro animal doméstico que foi encontrado por vários autores naturalmente infectado pelo *Trypanosoma cruzi*. Ainda em recente viagem que fizemos ao Núcleo de Colonização Barão de Antonina, município de Itaporanga, Estado de São Paulo, conseguimos achar dois cães naturalmente infectados.

Já foi demonstrada a possibilidade de vertebrados silvestres albergarem o virus. Assim, por exemplo, Chagas encontrou, nessas condições, logo no início dos seus estudos, tatús (*Tatusia novemcincta*); Robertson (1929), o gambá (*Didelphys marsupialis*); Clark e Dunn (1932), esquilos (*Sciurus gerardi morulus*); Villela, cofia (cits. p. Chagas, E., 9); Mazza (10) (*Tayra barbara*, *Pseudalopex culpeus andinus*, *Pseudalopex culpeus culpeus*, *Pseudalopex gracilis gracilis*, *Leptosciurus argentinus*, *Chaetophractus vellerosus vellerosus*, *Didelphys paraguayensis*, *Tolypeutes matacos*, *Chaetophractus vellerosus pannosus*) e Mazza e colbs. (11) (*Zoedys pichy caurinus*, *Lutrealina crasicaudata paranalis*, *Grissonella ratelina*), etc.

Também em quirópteros têm sido achados tripanosomas. Esses tripanosomas se apresentam com morfologia idêntica à do *Trypanosoma cruzi*, dêle se afastando, entretanto, no que diz respeito à infectividade e virulência. Dias, entre outros, tem se ocupado, repetidamente, desta interessante questão (Dias, 12, 13, Dias e Romãna, 14).

### INSETO TRANSMISSOR

**Sistemática** — O único agente vector da moléstia de Chagas, em condições naturais, pertence ao *phylum Arthropoda*, classe *Hexapoda*, ordem *Hemiptera*, super-família *Reduvoidea*, família *Triatomidae*.

Foram assinaladas, no Brasil, até 1936, as seguintes espécies de triatomídeos, segundo Neiva e Lent (15): *Triatoma brasiliensis*, *Rhodnius brethesi*, *Rhodnius brumpti*, *Triatoma chagasi*, *Psammolestes coreodes*, *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius domesticus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Eutriatoma gomesi*, *Triatoma infestans*, *Neotriatoma limai*, *Panstrongylus lutzi*, *Eutriatoma maculata*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma melanocephala*, *Erathyrus mucronatus*, *Rhodnius nasutus*, *Eutriatoma oswaldoi*, *Eutriatoma petrochii*, *Rhodnius pictipes*, *Triatoma recurva*, *Rhodnius robustus*, *Triatoma rubrofasciata*, *Eutriatoma rubrovaria*, *Eutriatoma sordida*, *Panstrongylus tenuis*, *Eutriatoma tibiamaculata* e *Triatoma vitticeps*.

As seguintes espécies foram encontradas naturalmente infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, segundo Pinto, 1925, (16):

*Panstrongylus megistus*, *Eutriatoma sordida*, *Panstrongylus geniculatus*, *Triatoma infestans*, *Triatoma vitticeps*, *Eutriatoma rubrovaria*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma chagasi*, *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius brumpti* e *Erathyrus cuspidatus*.

**Biologia** — Os triatomas (\*) são insetos hematófagos estritos, nutrindo-se do sangue do homem ou dos animais domésticos ou silvestres.

Na designação vulgar, são conhecidos pelos nomes de “chupança”, “barbeiro”, “fincão”, “porocotó”, etc.

As espécies domiciliares são, naturalmente, as mais importantes do ponto de vista da transmissão da moléstia ao homem. O seu “habitat” é formado pelas moradias rurais, em geral toscas e mal acabadas, que constituem o tipo dominante no interior do Brasil. As habitações onde os triatomas são encontrados em maior número são, geralmente, as casas de pau a pique, não rebocadas e cobertas de sapé.

Nas múltiplas frinchas da parede e do teto êles se acoitam, pondo aí seus ovos e se multiplicando em número por vezes assustador. É geralmente à noite que os insetos saem dos seus esconderijos para picar o homem durante o sono. Picam de preferência no rosto,

(\*) Usamos a palavra triatoma, não para designar determinada espécie, ou gênero, mas sim num sentido geral.

de onde lhes veio a denominação vulgar de “barbeiros”. Logo após a repleção, emitem os triatomas as dejeções. As manchas que essas fézes deixam nas paredes são um bom indício da existência desses insetos.

Também encontramos, frequentemente, grande número de triatomas nos galinheiros, nutrindo-se do sangue das aves. As galinhas são completamente imunes ao *Trypanosoma cruzi*; êste fato deve ser tomado em consideração ao ser feito o índice de infecção dos triatomas de uma habitação pelo *Trypanosoma cruzi*; não devem ser computados juntamente os insetos provenientes dos galinheiros, pois isso faria certamente baixar o índice geral.

Espécies há de hábitos silvestres, alimentando-se do sangue de animais silvestres, como por exemplo o *Panstrongylus geniculatus*, que tem sido encontrado em locas de tatús.

Examinando as dejeções dos triatomas podemos encontrar o *Trypanosoma cruzi*, o que significa que os insetos se acham infectados, capazes de transmitir a moléstia ao homem ou outros vertebrados. Vejamos de que modo os triatomas se infectam com o *Trypanosoma cruzi*.

**Modo de infecção do vector pelo *Trypanosoma cruzi*** — O modo normal pelo qual o vector se infecta com o *Trypanosoma cruzi* é pela picada em homem ou animal, parasitados, que tenham tripanosomas no sangue circulante. Esse é o mecanismo que acreditamos predominar de modo absoluto.

Um fato que chamou a atenção dos pesquisadores, por ser aparentemente paradoxal, foi o seguinte: em muitas regiões onde o índice de infecção dos triatomas pelo tripanosoma era elevado não se conseguia encontrar casos humanos de moléstia de Chagas, nem animais infectados.

Para explicar êsse fato, à primeira vista enigmático, foram invocadas várias hipóteses, todas elas admitindo a possibilidade da transmissão do *Trypanosoma cruzi* entre os invertebrados.

Lembrou-se a possibilidade da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* transmitir-se por herança, a insetos nascidos de pais infectados. Mayer, em 1922, (cit. p. Dias, 8), refere ter obtido a confirmação experimental dessa hipótese. Outros autores obtiveram, entretanto, resultados sistematicamente negativos. A idéia da possível transmissão hereditária do tripanosoma entre os triatomas caiu hoje em completo descrédito.

Outro modo de infecção dos triatomas seria o coprofagismo. Sugando dejeções de outros, infectados, poderiam os insetos se infectar. O coprofagismo foi assinalado por Brumpt, em 1914, (cit. p. Dias, 8), para o *Rhodnius prolixus*. Reichenow (1934) (cit. p. Dias, 17), acredita que o coprofagismo tem papel importante na manutenção dos flagelados entre os insetos. Torres (18) e Dias (7), (17), trabalhando com *Panstrongylus megistus* e *Eutriatoma sordida*, nunca conseguiram observar o coprofagismo. Nós também,

em repetidas experiências com o *Triatoma infestans*, sempre tivemos resultados negativos. É lícito concluir que o coprofagismo, se é que existe, nenhuma importância tem na disseminação da infecção dos triatomas pelo tripanosoma.

Citemos, finalmente, o canibalismo: poderiam os triatomas se infectar picando outros, portadores de *Trypanosoma cruzi*. O canibalismo entre triatomas foi observado por vários autores, como Machado, Brumpt (cits. p. Dias, 7), Torres (18); nós mesmos tivemos oportunidade de apreciar o fato, uma única vez, é verdade, em relação ao *Triatoma infestans*. Acharmos, entretanto, de acôrdo com Torres (18), que o canibalismo, em condições naturais, é excepcional, não podendo explicar, portanto, a disseminação do parasitismo entre os triatomas.

Da breve análise da questão, que acabamos de fazer, ressalta uma cousa: o parasitismo dos triatomas de uma dada zona pelo *Trypanosoma cruzi* só pôde ser explicado pela presença, nessa região, de casos de tripanosomose americana, no homem ou noutros vertebrados, aí existentes, que seriam os responsáveis pela infecção dos insetos. Levando-se em consideração certos aspectos peculiares da biologia do vector e, em particular, a sua alta capacidade de se infectar — o que fez que os triatomas fossem denominados por Brumpt (cit. p. Dias, 17) de “merveilleux hôtes vecteurs” — explica-se a possibilidade de um número restrito de portadores vertebrados do tripanosoma infectar grande quantidade de triatomas. A infecção de triatomas de uma região será o indício da existência, aí, de vertebrados infectados. Em outras palavras, usando uma expressão bastante sugestiva, será um verdadeiro xenodiagnóstico natural.

Infectando-se o triatoma pela picada, nas diferentes porções do seu tubo digestivo vai o tripanosoma passar por uma série de fases, que representam verdadeiro ciclo evolutivo. Para a rápida exposição que passamos a fazer, nós nos valem, sobretudo, dos trabalhos de Dias (7), que são, sôbre o assunto, dos mais completos.

**Morfologia do TRYPANOSOMA CRUZI no organismo do inseto vector** — O tripanosoma sofre, no tubo digestivo do triatoma, um ciclo evolutivo, que pôde ser esquematizado em três fases: estomacal, intestinal e retal.

*Fase estomacal.* Os tripanosomas ingeridos pelo triatoma, com o sangue, vão sofrer, no seu estômago, uma série de transformações regressivas. Passam, em grande parte, ao estágio de critídias. Esse é o traço característico da fase estomacal do ciclo. Podemos encontrar, também, formas variadas de transição, leishmânias e formas degeneradas. Dias (7) observou a possibilidade da permanência no estômago, por longo tempo, de formas infectantes.

*Fase intestinal.* Na porção intestiforme do mesenteron podemos encontrar tripanosomas, formas de transição e critídias. A fase intestinal constitue um período de intensa multiplicação dos parasitas, sob a forma de critídias.

*Fase retal.* Esta é a fase final do ciclo. Na ampola retal encontramos critídias provindas da fase precedente, pequenas, com tendência a se fixar às paredes do órgão. As critídias dão origem aos elementos finais do ciclo, formas metacíclicas (Brumpt). Esses elementos têm o quinetonúcleo posterior: são tripanosomas.

Como vimos, o ciclo evolutivo termina no intestino posterior; assim sendo, o *Trypanosoma cruzi* pertence ao tipo chamado de "posterior station" (Wenyon, 3). A presença das formas metacíclicas, infectantes, nas fezes do invertebrado, possibilita a transmissão pelo método chamado "contaminativo" (Wenyon, 3). A isto voltaremos mais adiante, ao tratarmos do mecanismo de transmissão da moléstia, do invertebrado ao vertebrado.

Os triatomas, uma vez infectados, assim ficam, em geral, até o fim da sua vida (Chagas, cit. p. Dias, 7).

A duração total do ciclo do tripanosoma no tubo digestivo do triatoma varia segundo muitos fatores. Nos indivíduos jovens da espécie *Panstrongylus megistus*, Dias observou (7) que os elementos metacíclicos começam a se formar em geral, no 6.º ou 7.º dias. Segundo o autor citado, nas ninfas e nos adultos o ciclo deverá se completar entre 10 a 15 dias depois da contaminação.

Chagas (1) acreditava que o *Trypanosoma cruzi* também sofresse, no organismo do triatoma, um ciclo sexuado; pensava que, no intestino médio, se desse a conjugação entre as formas delgadas e formas largas, de que nós já nos ocupamos, as quais seriam, segundo ele, elementos sexualmente diferenciados. Algumas das formas infectantes, resultantes da conjugação, dirigir-se-iam para as glândulas salivares, sendo inoculadas por ocasião da picada do inseto. Acreditava Chagas que este fosse o mecanismo normal de transmissão da moléstia. Chagas (1) encontrou tripanosomas nas glândulas salivares de triatomas, o que parecia confirmar o seu raciocínio. Mas, à exceção de Barros Barreto, cit. p. Cunha 1923, e este cit. p. Dias (7), nenhum autor, dos muitos que se ocuparam do assunto, conseguiu confirmar o achado de Chagas; nós mesmos (19) sempre obtivemos resultados negativos. A hipótese de Chagas está hoje abandonada pelos pesquisadores.

**Mecanismo de transmissão da moléstia** — O problema do mecanismo de transmissão da moléstia, do inseto vector ao homem, ainda gera discussões, embora tenha sido objeto de inúmeros estudos. As duas hipóteses, em torno das quais se agrupam as opiniões, são as seguintes: a de Chagas, segundo a qual a transmissão se faria pela picada do inseto, e a de Brumpt, para quem a via de penetração seriam as mucosas, as escoriações ou mesmo a pele intacta. Os trabalhos publicados sobre o assunto ora apoiam uma, ora outra das duas mencionadas hipóteses. Das experiências de transmissão por picada, com resultado positivo (v. Cardoso, 19), destacam-se as de Torres, pelo cuidado que tomou em afastar possíveis causas de erro. Um

outro grupo de autores obteve sempre resultados negativos nas tentativas de transmissão por picada. Entre esses se encontram Brumpt e da Silva, Niño, Dias, Kofoid e Donat, E. Chagas (cits. p. Cardoso, 19). Brumpt, em seguida a observações experimentais, emitiu a hipótese de que a transmissão da moléstia se fazia pelas dejeções dos triatomas infectados e não pela picada. Essa opinião foi adotada, depois, por muitos investigadores. A contaminação pelas dejeções infectadas foi obtida experimentalmente através das mucosas e da pele intacta. É numerosa a bibliografia sobre este assunto (v. Cardoso, 19). Hoare (20), em 1934, fez uma revisão bibliográfica geral da matéria.

Em 1938, nós (19) retomámos o estudo da questão, no laboratório de Brumpt. Trabalhámos com uma cepa de *Trypanosoma cruzi*, conservada no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina de Paris, de origem brasileira. Usámos triatomas da espécie *Triatoma infestans*. O animal empregado para as inoculações foi o camondongo. Os resultados dessas experiências podem ser resumidos como segue: 1) Tentativas de transmissão através das mucosas intactas, partindo de dejeções infectadas de triatomas: transmissão em 80 % das experiências. Foram utilizadas as mucosas ocular, vaginal, bucal e retal. 2) Tentativas de transmissão através da pele intacta: todos os resultados foram negativos. 3) Tentativas de transmissão através da pele escarificada: resultados positivos em 100 % dos casos. 4) Tentativas de transmissão por picada (tomadas todas as precauções para afastar a possibilidade do animal em experiência ser contaminado pelas dejeções do triatoma): obtivemos um resultado positivo, em 20. Foram dissecados os triatomas que serviram para estas últimas experiências e pesquisadas formas evolutivas do tripanosoma nas suas glândulas salivares, sempre com resultados negativos. Dessas experiências deve ser assinalada, como fato de interesse, a transmissão da moléstia ao camondongo, pela picada do triatoma, o que foi conseguido uma única vez. Yorke (1939), comentando o nosso trabalho (\*), lembra a seguinte explicação para o fato: "the mouth parts of the bug which infected may have been contaminated with metacyclic trypanosomes from its own faeces, or those of another bug, shortly before the experiment commenced". Com a técnica que usámos, essa explicação nos parece descabida. Inclina-mo-nos, sim, para a hipótese já anteriormente aventada por Dias (7) e achamos que esse resultado positivo poderia ter sido a consequência do regorgitamento, durante a sucção, pelo triatoma, de formas infectantes de *Trypanosoma cruzi* sobreviventes no estômago do inseto, desde o último repasto infectante.

Os dados experimentais, que acabamos de mencionar, e outras considerações de ordem clínica e epidemiológica, nos levam a admitir que a transmissão da moléstia de Chagas ao homem, na natureza, se faça pelas dejeções dos triatomas infectados, que entram em con-

(\*) Trop. Dis. Bull. — XXXVI (3): 228-229, mar. 1939.

tacto com as mucosas ou com a pele escarificada. (Em nossas experiências nunca conseguimos a transmissão através da pele integra, contrariando observações anteriores de Brumpt, 21).

Em favor dessa hipótese fala a biologia do vector. Já vimos que as dejeções são sistematicamente emitidas durante ou logo após a picada. Podem elas cair sobre a pele ou mucosas do indivíduo, ou ser inoculadas no ato de coçar. O tipo de evolução posterior do tripanosoma no tubo digestivo do triatoma faz-nos encarar com mais simpatia o mecanismo de inoculação por contaminação. Em favor da entrada pela mucosa conjuntival também depõe o complexo oftalmoganglionar, sinal cuja importância clínica e epidemiológica veremos adiante, e que é interpretado pelos autores como verdadeira lesão de porta de entrada do tripanosoma. São também bastante ilustrativos, a esse respeito, os raros casos em que se deu a contaminação acidental de pesquisadores com fézes infectadas. O desagradável acidente que motivou, em 1938, a contaminação da Dra. A. Herr, auxiliar de Brumpt, é bastante significativo (Herr e Brumpt, L., 22). Na verdade, a paciente recebeu, no olho, dejeções de *Triatoma pallidipennis*, infectadas com *Trypanosoma cruzi* e, 14 dias depois, veio a ter um edema palpebral e subpalpebral, do lado da inoculação, acompanhado de reação ganglionar satélite. Surgiu a febre e foi confirmado, pelo xenodiagnóstico, o diagnóstico de moléstia de Chagas.

A transmissão pela picada, segundo nosso modo de ver, é possível, se bem que muito rara.

Mencionemos, enfim, a transmissão da doença por via congênita. Esta possibilidade ficou provada principalmente pelos estudos de Souza Campos (23), Nattan-Larrier, Viana, Rocha Lima e Villela (cits. p. Souza Campos, 23).

### MARCHA GERAL DA MOLÉSTIA

**Fases clínicas** — A tripanosomose americana pode ser considerada, na expressão de E. Chagas (9), uma infecção geral metastática.

A contaminação do indivíduo são constitue a primoinfecção. Esta póde verificar-se pelos mecanismos já expostos, isto é, penetração dos tripanosomas existentes nas dejeções dos triatomas, por escoriações da pele, ou pelas mucosas, ainda que integras, ou póde êle ser inoculado pela picada do hematófago. Forma-se, então, uma inflamação local de inoculação, com reação ganglionar satélite. A reação cutânea de inoculação é denominada, por Mazza e Freire (24), *chagoma de inoculação*. Corresponderia ao que era chamado, por G. e R. Basso, e pelo proprio Mazza, de complexo cutâneo-ganglionar (Mazza, 24). A contaminação das mucosas, que parece ser mais frequente na mucosa conjuntival, também provoca uma reação de inoculação. Para esta lesão, G. e R. Basso (cits. p. Mazza, 24) lembraram a denominação de *complexo oftalmo-ganglionar*, que achamos justificada e aconselhável. Em face dos atuais conhecimentos sobre a clínica e epi-

demiologia da moléstia, parece que a porta de entrada mais comum do tripanosoma é a mucosa conjuntival. Essa, a opinião ainda recentemente exarada por Talice e colbs. (6).

Após a sua penetração, os tripanosomas transformam-se em leishmânias e, sob esta forma, multiplicam-se ativamente nos tecidos locais. Depois dessa fase de intensa reprodução, as leishmânias dão origem a tripanosomas, que são lançados na corrente sanguínea. Dá-se, então, a disseminação hematogênica e generalização da moléstia. Dos tripanosomas do meio sanguíneo, que não são destruídos pelas defesas naturais do organismo, uma parte vai localizar-se em outros tecidos e, sobretudo, por um particular tropismo, no tecido muscular e no tecido nervoso. Retomam, aí, os tripanosomas, a forma de leishmânias, que iniciam a multiplicação intracelular. Desses múltiplos focos metastáticos, novos tripanosomas são lançados na corrente circulatória, podendo produzir outros focos, à distância. As fases sucessivas que acabamos de mencionar se exteriorizam por uma série de sinais. Vejamos como se manifesta clinicamente a moléstia, sem nos alongarmos, visto como êsse aspecto da questão exorbita do ponto de vista epidemiológico e profilático, em que nos colocámos de início.

De modo esquemático, podemos considerar, na tripanosomose, duas fases: aguda e crônica.

*Fase aguda* — A fase aguda corresponde à primoinfecção. O período de incubação pode ser avaliado em 10 a 15 dias. As experiências de E. Chagas "in anima nobile" e os casos fortuitos de contaminação de técnicos em laboratório, dão-nos indicações a êsse respeito. Em seguida a êsse prazo, o foco inflamatório, que representa a reação local contra o tripanosoma, em geral se manifesta nitidamente. Poderá ser observado, então, o complexo cutâneo-ganglionar, ou o complexo oftalmo-ganglionar, mais comum, significando geralmente êste, segundo os autores, a penetração do parasita por via conjuntival.

O complexo oftalmo-ganglionar merece um estudo mais minucioso, em vista da importância que lhe vem sendo atribuída, principalmente nestes últimos anos, e das controvérsias que tem suscitado. Chagas (1,25), já em suas primeiras publicações, assinala o fato, por êle observado, dos doentes em fase aguda apresentarem, em sua maioria, edema das pálpebras ou da face e reação ganglionar. Mais recentemente, pesquisadores como Romaña, Mazza e outros chamaram a atenção para a importância do sinal observado por Chagas. Êste sinal tem sido denominado sinal do olho, sinal de Romaña, conjuntivite esquizotripanosomiana unilateral. Preferimos a denominação proposta por G. e R. Basso, de complexo oftalmo-ganglionar.

O complexo oftalmo-ganglionar manifesta-se com os seguintes caracteres principais: edema das pálpebras de um olho ou, mais raramente, dos dois; o edema é elástico, indolor, de coloração ligeiramente violácea; pôde provocar a oclusão completa de um ou dos dois olhos ou mesmo se estender ao resto da face; pôde existir conjuntivite, com escassa secreção; a dacrioadenite existe frequentemente; ha reação ganglionar satélite localizada nos gânglios preauriculares, retromastoidea-

nos, submaxilares ou cervicais. O aparecimento desses elementos é geralmente interpretado, segundo já foi dito, como representando o resultado da reação local à penetração do parasita. Lembremos, entretanto, a possibilidade de sinais semelhantes se originarem por via endógena (Talice e colbs., 6).

Embora possam existir formas agudas não edematosas (Talice e colbs., 6), a frequência grande com que o complexo oftalmo-ganglionar aparece nas formas agudas da tripanosomose foi centralizando a atenção dos investigadores. Sendo um sinal bastante característico da moléstia, permitiu, em múltiplas oportunidades, o diagnóstico clínico, à distância, precedendo o diagnóstico parasitológico (Talice, 26). A importância epidemiológica deste sinal é grande: na verdade, sendo ele de fácil reconhecimento e bastante característico da enfermidade, a sua pesquisa cuidadosa revelará muitos casos ignotos. Em 1939, nós, em colaboração com Rosenfeld (27), encontramos um caso agudo de moléstia de Chagas no Estado de São Paulo; o que nos chamou primeiramente a atenção foi o edema bipalpebral, mais acentuado de um lado, acompanhado de reação ganglionar satélite. Recentemente, Beltrão (28) encontrou, no Rio Grande do Sul, um caso agudo da moléstia, em que o complexo oftalmo-ganglionar estava presente. Um fato assinalado por este autor, e que nos causou espécie, foi a "ausência de reação ganglionar satélite" nesse caso.

Ainda na fase aguda, dá-se a passagem dos tripanosomas para a corrente circulatória. Surgem, então, os sintomas de generalização; aparece a febre, de tipo contínuo, outras vezes irregular; manifestam-se as adenopatias generalizadas secundárias, taquicardia, espleno e hepatomegalia, etc.

Ainda no período de generalização da fase aguda, é possível a localização do tripanosoma em diferentes tecidos; poderão aparecer, então, sintomas variados, dependentes dessas respectivas localizações.

*Fase crônica* — A distinção da moléstia em fase aguda e fase crônica é bastante artificial; serve-nos, entretanto, como esquema, para fins didáticos. Em seguida à fase aguda, em que dominam o quadro os sintomas toxêmicos, vem a fase crônica, para a qual o doente passa, numa transição insensível. Nesta, já não se encontram, com facilidade, os tripanosomas no sangue periférico. Os diferentes focos metastáticos podem, entretanto, voltar a lançar na circulação novos tripanosomas, que poderão localizar-se à distância. O progredir das lesões dos diferentes tecidos e órgãos conduz às variadas formas clínicas, que aparecem na fase crônica da moléstia. É fácil de imaginar a multiplicidade de aspectos clínicos que a doença pôde revestir na sua fase crônica. Rapidamente — pois o assunto escapa à nossa alçada — mencionaremos as duas principais: a) Forma cardíaca. É, segundo E. Chagas (9), a mais frequente forma clínica. Da localização miocárdica do tripanosoma resultam sintomas diversos, que consistem, geralmente, em alterações do ritmo cardíaco. O tripanosoma causa a miocardite intersticial e parenquimatosa. A insuficiência cardíaca, que se instala lenta e progressivamente, pôde ser a causa da morte. Em outros casos,

a morte sobremem subitamente. Esta forma da moléstia tem sido bastante estudada, entre outros autores, por E. Chagas (9, 29, 30). b) Forma nervosa. Esta modalidade pôde manifestar-se de diferentes modos, segundo o tipo das localizações histopatológicas: meningo-encefalites, diplegias cerebrais, síndromes epiléticas, cerebelares, etc. O psiquismo dos doentes também pôde ser lesado.

No grande grupo das outras formas crônicas têm sido assinaladas lesões das cápsulas suprarenais e dos rins, dos pulmões, do fígado e do baço, dos órgãos genitais e glandulares (Chagas E., 9). Já nas suas primeiras publicações, Chagas afirmou que o bócio endêmico, tão encontrado em certas zonas rurais do Brasil, era causado pelo *Trypanosoma cruzi*; disse mesmo que o bócio era “um dos caracteres anatômicos mais salientes da moléstia” (Chagas, 31). De tal modo essa idéia se arraigou que, ainda hoje, ha quem ligue imediatamente à moléstia de Chagas a idéia de bócio. Porém, a opinião que atualmente congrega maior número de autores é a de que não existe relação de causa e efeito entre moléstia de Chagas e bócio endêmico.

### ANATOMIA PATOLÓGICA

Embora capítulo importante e que tem sido bastante estudado, não nos apresenta interêsse imediato, do ponto de vista epidemiológico. Passemos, portanto, ao estudo dos meios de diagnóstico.

### DIAGNÓSTICO

**Diagnóstico clínico** — O diagnóstico clínico pôde ser formulado pela observação dos sintomas que atrás rapidamente descrevemos. Porém, achamos que, num caso concreto, para se poder afirmar, com segurança, que se trata da moléstia de Chagas, é preciso seja o diagnóstico clínico sancionado pela comprovação parasitológica.

No diagnóstico clínico não deve ser olvidada a pesquisa do complexo oftalmo-ganglionar. Esse sinal, sendo bastante característico da forma aguda da moléstia, tem grande valor diagnóstico. A difusão dos seus caracteres e da sua significação, entre os médicos das zonas onde existam triatomas infectados, certamente muito contribuirá para revelar a presença de casos agudos da moléstia.

Em moradias infestadas por triatomas portadores de tripanosomas, diante de infecção aguda, febril, de causa desconhecida, sobretudo em crianças, nunca devemos esquecer a possibilidade de se tratar da tripanosomose americana.

**Diagnóstico de laboratório** — Façamos uma enumeração dos principais recursos de laboratório, de que dispomos para o diagnóstico da moléstia, em suas diferentes fases, aduzindo rápida crítica sobre o seu respectivo valor.

**Exame a fresco do sangue** — Consiste este processo no exame, a fresco, de uma gota de sangue do indivíduo suspeito, colocada entre lâmina e lamínula. Foi este recurso que permitiu a Chagas (1) o primeiro diagnóstico de um caso humano da moléstia. Os resultados que o

exame direto do sangue nos facultas são insuficientes, de um modo geral. Na verdade, só nos proporciona uma prova positiva nos doentes com grande número de tripanosomas no sangue circulante; o que é exceção. Geralmente os tripanosomas são muito escassos, sobretudo passada a fase hematogênica inicial, e esse método, não nos permitindo o exame de uma quantidade relativamente grande de sangue, os seus resultados são, evidentemente, falhos.

*Esfregação corado de sangue* — Usamos, para a coloração, o método de May-Grünwald-Giemsa. As críticas que fizemos acêrca do valor do exame a fresco se aplicam, “in totum”, ao presente método.

*Gota espessa de sangue* — A gota espessa, pela concentração do material, permite o exame de uma quantidade de sangue muito maior do que nos métodos precedentes. Crescem, assim, de muito, as probabilidades do encontro do tripanosoma. Este foi o recurso que nos permitiu o diagnóstico do caso agudo de moléstia de Chagas, que publicámos (27) em colaboração com Rosenfeld. Usando o mesmo método conseguimos encontrar, em recente viagem, dois cães, naturalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. Reputamos a gota espessa um dos melhores meios para o diagnóstico de laboratório, da moléstia. A técnica que atualmente seguimos é a seguinte: a) numa lâmina limpa, espalha-se a gota de sangue, de tamanho médio, sobre uma pequena área; b) deixa-se secar a gota espessa, abrigada; c) desmoglobiniza-se com líquido de Ruge (outros autores usam, nesta fase, água destilada ou o próprio corante diluído, mas os resultados que temos obtido com o uso do líquido de Ruge são muito melhores e mais constantes do que com outros meios de desmoglobinização); d) lava-se com água, cuidadosamente, a lâmina; e) cora-se, durante meia hora, com diluição de Giemsa feita na proporção de 3 gotas do corante para 2 c.c. de água destilada neutra. O exame cuidadoso e demorado da gota espessa nos permitirá o achado seguro dos tripanosomas corados. Às vezes, os tripanosomas se apresentam algo deformados, o que não impedirá, entretanto, o seu reconhecimento, por um técnico exercitado. Este é o método de diagnóstico que deve ser usado sistematicamente nos inquéritos sobre a disseminação da moléstia.

Também têm sido propostos métodos baseados no enriquecimento do material por centrifugação do sangue. Dêstes, porém, não temos experiência pessoal.

*Inoculação em animais de laboratório* — Vários animais são sensíveis à inoculação do *Trypanosoma cruzi*. Dentre os animais de laboratório, que melhor se prestam à inoculação com fins diagnósticos, destacamos o camondongo branco e a cobaia. O camondongo é o animal de eleição, não só pelo seu fácil manejo em laboratório, como também pela grande receptividade. Como processo de rotina, inocula-se, na cavidade peritoneal de camondongos, o sangue citratado da pessoa suspeita, retirado asépticamente. Usa-se um lote de vários animais. A inoculação deve ser feita o mais depressa possível depois da retirada do

sangue. O sangue pôde, entretanto, ser inoculado após algumas horas, ou mesmo dias, no caso de não ser possível a inoculação imediata. Neste caso é mister que o sangue não tenha sido contaminado. A esterilidade do meio quanto a bactérias é condição para que os tripanosomas resistam durante mais tempo. Inoculamos geralmente 1 c.c. de sangue citratado, em cada camondongo, por via intraperitoneal. Esta via é preferível, embora a inoculação também possa ser feita de outro modo, como, por exemplo, por via subcutânea. Após um período de incubação, que varia em torno de 15 dias, e no caso de haverem sido inoculados, com o sangue, tripanosomas, deveremos encontrar, no sangue periférico dos animais, as formas sanguícolas dos tripanosomas. A cobaia permite a inoculação de maior quantidade de sangue. Introduzimos geralmente 5 c.c. por via intraperitoneal. Temos obtido, entretanto, maior percentagem de positividade com os camondongos.

A inoculação do sangue suspeito em animais de laboratório, sensíveis, é recurso diagnóstico melhor do que os que já estudamos.

*Xenodiagnóstico* — O xenodiagnóstico foi proposto, em 1914, por Brumpt (32). Consiste em fazer picar o indivíduo suspeito por triatomas seguramente não infectados: examinando esses triatomas, um a dois meses mais tarde, se encontrarmos nas suas fezes formas evolutivas do *Trypanosoma cruzi*, o xenodiagnóstico será positivo, significando que o indivíduo suspeito apresentava o tripanosoma no seu sangue circulante. Como é bem de ver, condição "sine qua non" para a realização do xenodiagnóstico, é termos triatomas limpos, isto é, seguramente não infectados pelo tripanosoma. Por essa razão devem ser utilizados, exclusivamente, triatomas nascidos no laboratório e alimentados, desde o início, em animais não infectados ou, o que é mais aconselhável, em animais não suscetíveis à tripanosomose, como sejam pombos ou galinhas. Empregamos, geralmente, insetos no estágio de ninfa. A criação dos triatomas em temperatura de estufa (37.º) apressa consideravelmente o ciclo evolutivo do inseto, o que tem importância prática para a obtenção de triatomas para xenodiagnóstico, dentro de um prazo relativamente curto. Essa verificação é devida a Pessoa e Barros (33). Os triatomas devem ser colocados, em lotes de 5 ou 6, dentro de recipientes apropriados, que são aplicados sobre a pele da pessoa suspeita. Só devem ser retirados após repleção completa.

O xenodiagnóstico é, dentre os métodos que citamos, o mais sensível. Acreditamos mesmo que seja, de todos os métodos parasitológicos, aquele do qual se podem esperar melhores resultados. Pena é que o diagnóstico só possa ser conhecido após um tempo relativamente longo.

Nos casos de moléstia de Chagas, que descobrimos e estudamos em São Paulo, em colaboração com Rosenfeld (27), em número de 4, o xenodiagnóstico foi positivo em todos.

Em 3, foi positivo, embora houvessem falhado todas as pesquisas de parasitas anteriormente feitas pelo exame direto, exame em gota espessa, inoculação em animais, etc.

Em trabalho recente, Dias (34) estuda minuciosamente a técnica do xenodiagnóstico.

Achamos que êste processo nunca deve deixar de ser utilizado, desde que tenham falhado os métodos mais rápidos de diagnóstico.

Passemos, agora, ao diagnóstico sorológico da moléstia.

Esta questão já foi objeto de muitos estudos pois pensou-se que, com meios sorológicos, poderia ser resolvido o problema diagnóstico da moléstia de Chagas.

Várias têm sido as pesquisas de resultados negativos. Citemos, por exemplo, as que realizámos em cobaias, sobre a possibilidade de ser utilizada uma intradermoreação para fins diagnósticos. Usámos uma suspensão de tripanosomas de cultura, feita com a mesma técnica do preparo do antígeno de Montenegro para intradermoreação na leishmaniose tegumentar. Só obtivemos resultados negativos.

*Reação de Guerreiro e Machado* — Esta reação, descrita em 1913, por Guerreiro e Machado (35), tem sido empregada por muitos autores que, de um modo geral, admitem a sua especificidade. É uma reação de fixação do complemento, em que se usa, como antígeno, um extrato de baço de cão infectado, preparado segundo técnica especial. Seu emprego tem sido limitado, pela dificuldade de preparação e conservação do antígeno.

Nos 4 casos que estudámos (27), a reação foi positiva.

A sorologia da moléstia de Chagas é assunto que requer estudos mais minuciosos; é possível que dêles resulte o conhecimento de algum recurso diagnóstico de eficiência.

Para finalizar, vamos citar alguns meios diagnósticos, que têm sido lembrados, sobre os quais, entretanto, não temos experiência própria: punção esternal, biópsia de gânglio, viscerotomia cardio-hepática (para o diagnóstico *post-mortem*, proposta por Mazza, 36), etc. Poderíamos lembrar, ainda, a sementeira do sangue suspeito, colhido sob condições de assepsia, em meios de cultura adequados, como, por exemplo, o que utilizamos rotineiramente — o meio de Bonacci, fórmula IV (37).

### PROGNÓSTICO

O prognóstico imediato das formas agudas é, de um modo geral, benigno, a não ser que sobrevenham complicações meningo-encefálicas ou cardíacas. Mesmo sem medicação, na generalidade dos casos, os sintomas regridem progressivamente. Isto não significa que o doente esteja curado: passa, na maioria dos casos, ao estado crônico. A tripanosomose americana, neste estágio, é moléstia de duração mui longa. Complicações para o lado dos diferentes órgãos poderão surgir, de um momento para outro, fechando o prognóstico que, de início, parecera favorável. O fato de ainda não haver sido bem estudada a evolução longínqua das formas agudas nos obriga, em face do que atualmente sabemos, a considerar o prognóstico como reservado, no dizer de Talle e colbs. (6).

## TRATAMENTO

Até recentemente nenhuma substância química havia provado possuir qualidades terapêuticas nítidas em relação ao *Trypanosoma cruzi*. Em 1937, Mazza e colbs. (38) referiram ter experimentado, com êxito, em um caso, a medicação da casa "Bayer" designada por 7602 (Ac.). Mais tarde, Mazza e Paterson (39), Talice e colbs. (6), Herr e Brumpt (22) relatam outros resultados favoráveis. Achamos, entretanto, que para se formar um juízo definitivo sobre essa ação terapêutica é necessário maior número de observações, bem acompanhadas. A nossa experiência com esse medicamento se resumiu na tentativa de tratamento de um caso da forma aguda (27). Não observámos melhora sensível no doente, que pudesse ser atribuída à medicação. A presença de tripanosomas no sangue periférico foi permanente: antes, durante e depois do tratamento.

Considerados os principais aspectos da moléstia em si, vejamo-la, agora, do ponto de vista coletivo.

## DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Além do Estado de Minas Gerais onde, em Lassance, foi descoberta a moléstia (Chagas, 1), foi a presença da mesma verificada em outros Estados do Brasil.

No Estado de São Paulo foi encontrada, pela primeira vez, por Bayma, em 1914 (40). Em Mato Grosso e Goiás também foi observada (cit. Chagas, E., 9). No Estado do Rio Grande do Sul foi verificada a sua presença por Talice (41) e, mais tarde, por Beltrão (28). Em vários outros Estados do Brasil têm sido encontrados triatomas naturalmente infectados.

Em outros países da América do Sul e da América Central também foi achada a moléstia. Na Argentina, por Mühlens, Mazza, etc.; na Bolívia e no Perú, por Escomel; no Uruguay, por Talice e colbs.; na Venezuela, por Tejera; em São Salvador, por Segovia; no Panamá, por Miller, Clark e Dunn, etc.; na Guatemala, por Reichenow; no Chile, por Gasic.

Em outros países têm sido encontrados triatomas naturalmente infectados pelo tripanosoma como, por exemplo: na Colombia, por Matiz e Guzmán; nos Estados Unidos da América do Norte, por Kofoid e Mac Culloch, Packchanian, etc.; no Paraguay; em Honduras, Robertson observou gambás naturalmente infectados.

**Moléstia de Chagas no Estado de São Paulo** — Até o presente foram publicados 8 casos de moléstia de Chagas, comprovados, no Estado de São Paulo.

O primeiro foi o de Bayma (40), em 1914. O diagnóstico foi feito pela inoculação, em cobaia, do sangue de uma criança de Ribeirão Preto. O segundo foi o de Carini e Maciel (42), em 1914 e o diagnóstico também foi feito por inoculação; o terceiro foi encontrado ainda

por Bayma; o doente era de Ribeirão Preto e o diagnóstico foi obtido por inoculação (cit. p. Meyer, 43). O quarto caso foi achado por Villela (44), em 1918, e o diagnóstico foi confirmado pelo exame direto do sangue, no qual foram encontrados tripanosomas. Este era um caso agudo, em criança. Em 1939, nós (27), em colaboração com Rosenfeld, publicamos 4 casos da moléstia, comprovados pelo diagnóstico parasitológico. Esses casos foram encontrados no município de Ituverava, para onde nos dirigimos em missão do Instituto de Higiene de São Paulo, chefiada pelo Prof. G. H. de Paula Souza. Fomos com o objetivo de procurar casos humanos da moléstia, pois pesquisas preliminares já nos haviam indicado tratar-se de região suspeita, dada a frequência dos triatomas e a sua infecção natural pelo tripanosoma. Dos 4 casos que descrevemos, um pertencia à forma aguda e os 3 restantes à forma crônica. O diagnóstico do primeiro foi feito pelo método da gota espessa. Os outros foram comprovados pelo xenodiagnóstico.

Estudos contendo dados sobre a distribuição de triatomas em nosso Estado e a respectiva infecção pelo tripanosoma foram feitos por Bayma (45), Carini e Maciel (46), Gomes (47), Barros (48), Rosenfeld (49) e Cardoso e Rosenfeld (27).

Barros, em 1939, em trabalho do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo (48), descreveu o achado de um cão naturalmente infectado. Em recente viagem ao município de Itaporanga nós também encontramos dois cães, naturalmente infectados.

Vejamos, agora, a importância que têm alguns outros fatores na epidemiologia da moléstia.

### FATOR HABITAÇÃO

Não haverá moléstia de Chagas na ausência de triatomas infectados. Ora, estes, de um modo geral, só se encontram nas casas mal construídas, de pau a pique ou de madeira, mal calafetadas e não rebocadas, onde os múltiplos orifícios das paredes e do teto oferecem guarida aos insetos. Segundo observação de Talice e colbs. (6), a grande maioria de doentes provém desse tipo de casas: aqui está a explicação porque a maior parte dos enfermos pertence às classes sociais mais pobres. O fator habitação desempenha, portanto, papel primordial na epidemiologia da moléstia.

### FATOR ESTAÇÃO

Talice e colbs. (6), verificaram, baseando-se na estatística de 100 casos agudos, que a curva epidemiológica estacional da moléstia assim se apresenta: aumento progressivo na primavera; aumento crescente no verão; máximo no fim do verão-outono; diminuição paulatina no fim do outono; mínimo no inverno. Não parece haver razão para que,

entre nós, as cousas se passem diferentemente do que os autores citados verificaram para o caso do Uruguay. É justificável admitir que a incidência da moléstia esteja na direta dependência da biologia do inseto vector. Esse será o principal fator responsável pela variação estacional na incidência da moléstia.

### FATOR IDADE

Já desde as primeiras investigações feitas, verificou-se que as formas agudas incidem de preferência nos grupos etários baixos. São as crianças as mais atingidas. Este fato foi confirmado pelas observações de Talice e de Mazza.

O sexo não parece influir na distribuição dos casos.

No rápido esboço que acabamos de fazer sobre alguns dos principais fatores que influem na epidemiologia da moléstia, cingimo-nos aos dados que nos fornece a observação dos casos agudos, visto como os casos crônicos estudados representam um número relativamente pequeno, o que não permite uma apreciação de conjunto.

### PROFILAXIA

De um modo geral, na debelação das moléstias transmitidas por vectores, a profilaxia se funda no combate a êstes.

Vejamos no caso atual da tripanosomose, como se pôde realizar o combate ao vector, isto é, ao triatoma. A utilização dos inseticidas comuns não pôde vir em nosso auxílio porque os triatomas são insetos dos mais resistentes. Inseticidas ativos, como, por exemplo, o ácido cianídrico, têm o seu emprego limitado pelos próprios perigos decorrentes da sua ação tóxica sobre o homem e animais. Por outro lado, a desinsetização domiciliar é dificilmente realizável em habitações mal construídas, cheias de orifícios, como é o caso geral das casas infestadas por triatomas.

A medida radical seria a destruição das casas de pau a pique e a sua substituição por outras bem construídas, bem rebocadas, que não oferecessem condições propícias à vida e reprodução dos triatomas. Essa medida, no momento atual, não passa de utopia irrealizável; na verdade, o problema se entroza com questões econômicas muito sérias. As condições econômicas geralmente precárias das nossas populações rurais não permitem sejam derrubadas as suas habitações atuais e substituídas por outras de melhores condições higiênicas. Esse problema é de molde a centralizar as atenções das autoridades no sentido de auxiliar direta e efetivamente as populações rurais, quanto à melhoria da habitação. A atuação oficial seria não só de ordem educacional, mostrando e difundindo os perigos das cafúas, do ponto de vista sanitário, mas também dirigida como um auxílio financeiro ao trabalhador rural para que êle pudesse construir a sua moradia segundo um padrão higiênico, embora econômico. Este é um grande

problema social, a instar por uma solução; não cabe, no momento, o seu debate pormenorizado.

O uso de mosquiteiros hermeticamente fechados seria boa providência de proteção dos moradores contra o ataque dos triatomas.

A luta contra os depositários de virus é praticamente impossível de ser realizada radicalmente. Da mesma forma a luta biológica contra os triatomas, utilizando seus inimigos naturais, no momento, não passa de hipótese para orientar futuras investigações.

A educação sanitária das populações rurais, do ponto de vista da difusão dos conhecimentos mais importantes sobre a epidemiologia da moléstia de Chagas, é meio auxiliar valioso da campanha profilática, que não deve ser olvidado.

Forçoso é confessar, pois, que escassos e de difícil aplicação são os recursos profiláticos de que dispomos, atualmente, para a prevenção da moléstia.

### SIGNIFICAÇÃO REAL DO PROBLEMA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS

Cabe-nos agora abordar um assunto da mais alta significação: queremos referir-nos à verdadeira importância do problema da tripanosomose americana. Deixámo-lo, intencionalmente, para o fim da nossa preleção. Agora, que já foram vistos os principais aspectos da moléstia, estamos capacitados para, numa visão de conjunto, colocar o problema no seu justo lugar, ajuizar imparcialmente do seu real significado no complexo dos males que flagelam as nossas populações rurais.

Até hoje ainda se discute a importância desta enfermidade: opiniões contrárias são emitidas sobre o intrincado assunto.

Justificada é a afirmativa de Mazza quando diz que “pocas enfermedades, como la de Chagas, han sufrido más vicisitudes ante la opinión médica universal, aunque descubierta desde el comienzo en su agente produtor, insecto vector, patogenia, diagnóstico y principales formas clínicas” (Mazza, 50).

Ainda hoje a opinião mais corrente entre nós, mesmo no meio médico, é a de que a moléstia de Chagas pouca ou nenhuma importância tem, do ponto de vista epidemiológico. E, até certo ponto, êste modo de ver parece encontrar justificativa no número relativamente escasso de casos publicados da moléstia, em nosso meio, mau grado os 30 anos que nos separam da data da notável descoberta. Procuraremos interpretar como se gerou êste conceito, que reputamos errôneo.

Volvamos os olhos para os primeiros estudos feitos sobre a moléstia. A descoberta de Chagas despertou, como era de prever, extraordinário interesse nos meios científicos mundiais, não só porque havia sido revelada uma nova moléstia humana, que até então jazia desconhecida, como também pela maneira magistral com que foram versados, por Chagas, os principais aspectos a ela atinentes.

Chagas, encorajado pelos resultados obtidos, continúa ativamente as pesquisas. Descobre novos doentes. De 1909 a 1916, Chagas e

colaboradores verificam, no Estado de Minas Gerais, 29 casos da moléstia. Outros também são relatados por vários investigadores, em diferentes pontos do país. Surgiu, então, a questão de saber se a moléstia recém-descoberta era importante entre as enfermidades rurais, ou se se tratava de casos esporádicos.

Chagas, partindo do conceito hoje geralmente não admitido de que o bócio endêmico, existente em vastas regiões do Brasil, era causado pela tripanosomose, exagerou, assim, a importância da moléstia, que êle havia descrito. Essa opinião, tendo a ampará-la a autoridade científica de Chagas, logo foi esposada pela maioria dos investigadores de então.

O entusiasmo inicial não durou muito tempo. O número de casos publicados estacionou. Foram surgindo as primeiras dúvidas sobre se deveria ser atribuída à tripanosomose a etiologia do bócio e cretinismo endêmico. Como bem acentua Talice e cols. (6), enquanto se continuava a procurar as formas crônicas da moléstia, que sabemos serem de diagnóstico clínico mui difícil e se não prestarem facilmente à comprovação parasitológica, descuroou-se a pesquisa dos casos agudos. Pesquisas de casos humanos, com resultado negativo, foram feitas em zonas onde havia, em abundância, triatomas infectados, talvez porque não tivessem sido utilizados os recursos hoje considerados eficientes para o diagnóstico. Por outro lado, muitas eram as dificuldades que acompanhavam as investigações dessa natureza, por isso que a moléstia de Chagas é doença de zonas rurais, geralmente muito afastadas dos grandes centros. Tudo isso foram óbices que entravaram o prosseguimento dos estudos epidemiológicos. E a moléstia foi caindo progressivamente no olvido. Investigadores estrangeiros, que aqui estudaram o assunto, obtiveram, também, resultados negativos. Citando Talice e cols. (6), lembraremos que a comissão constituída por Kraus, Rosenbusch e Maggio concluiu o seu relatório dizendo que “*la vinchuca infectada com el T. cruzi en la Argentina, con mucha probabilidad, no produce la enfermedad de Chagas*”.

Isso ainda veio reforçar a campanha de descrédito contra a moléstia em questão, não só no estrangeiro como mesmo — o que era estranho — dentro do nosso país, no seio da nossa classe médica.

E, então, chegamos a um ponto, para nós, brasileiros, doloroso de lembrar, em que Chagas foi vítima de rudes ataques, nem sempre mantidos por seus opositores no nível elevado da discussão científica. Chagas, respondendo às críticas que lhe foram feitas, logrou sair vitorioso da polêmica, não conseguindo, entretanto, fazer atribuir à tripanosomose a importância que êle lhe queria dar.

Passemos a época mais recente. Vejamos o problema como está sendo encarado pelas escolas argentina e uruguaia.

Em 1932, começou Mazza a estudar, na Argentina, o problema da moléstia de Chagas. Graças às pesquisas realizadas pela “Misión de Estudios de Patologia Regional Argentina”, sob sua chefia, e nas quais foram utilizados meios eficientes de diagnóstico, e devido também à divulgação de conhecimentos sobre a moléstia, sobretudo entre os mé-

dicos das regiões suspeitas, cuja colaboração foi valiosa, começaram a ser publicados casos da enfermidade no país, em número sempre crescente. Dessa época até o presente foram descritos, na Argentina, cerca de 600 casos agudos da moléstia (Mazza, 36); foram encontrados numerosos mamíferos domésticos e silvestres naturalmente infectados e foram examinados muitos triatomas, com o que se determinou sua distribuição e respectiva infecção pelo tripanosoma, nas diferentes zonas do país. A opinião de Mazza (51) é que: “La Enfermedad de Chagas... de existencia y considerable difusión indudables, en todo el territorio del país, donde existan *vinchucas*, como moradqres habituales de la vivienda humana rural, o urbana con casas antiguas, de paredes de adobes o barro no bien revocadas, contituye seguramente, el factor morbígeno de mayor importância en la patologia regional argentina...”

Em 1937 foi encontrado o primeiro caso no Uruguay, por Talice e colbs. (52).

Quando trabalhávamos no laboratório de Brumpt, juntamente com Talice, êste nos comunicou as suas esperanças de que em breve crescesse o número de doentes conhecidos no Uruguay. Na verdade, as suas previsões não tardaram em ser confirmadas. De 1937 a 1939, pesquisas orientadas por Talice evidenciaram, no país, 127 casos da moléstia (até 21 de fevereiro de 1940), dos quais os 100 primeiros constituíram objeto de recente monografia (Talice, Costa, Rial e Osimani, 6).

Talice e colbs. (6), acham que a moléstia de Chagas “es un vasto problema continental”. Calculam que, no Uruguay, cuja população é, aproximadamente, de 2,5 milhões de habitantes, cerca de 700.000 pessoas estejam expostas quasi permanentemente à infecção (Talice e colbs., 6). E, por cálculos aproximativos, avaliam em 3.000 o número de casos agudos edematosos, por ano, no país. Na expressão de Talice (53), “Si no hay motivo de alarma, sí lo hay de preocupación”.

E no Brasil? Qual a opinião dominante? Forçoso é dizer que o conceito corrente é que, no tocante à moléstia de Chagas, trata-se antes de uma entidade nosológica exótica do que de um problema de real importância.

Contra êsse conceito falam as opiniões dos especialistas citados, baseados nos estudos que fizeram em seus países. Entre nós, não há razão para que as condições sejam muito diversas. Contrariando a idéia de que se trata de moléstia muito rara, alinham-se argumentos ponderáveis como, por exemplo, a existência, em nosso país, de vastas zonas com triatomas infectados pelo *Trypanosoma cruzi* — fato êsse que já vimos poder ser interpretado como verdadeiro xenodiagnóstico natural, — e o encontro de animais e pessoas doentes, desde que se usem recursos sensíveis de diagnóstico.

Como dissemos em trabalho anterior (27), êsses argumentos “levam a crer, de antemão, que a moléstia deve estar bastante generalizada entre nós e que o achado dos casos depende apenas de pesquisa bem orientada e dos recursos nela empregados”.

Passemos, agora, ao estudo de como devem ser feitos, em nosso meio, os inquéritos epidemiológicos sôbre a moléstia de Chagas.

### INQUÉRITOS EPIDEMIOLÓGICOS

Numa primeira fase de pesquisas deve-se procurar examinar o maior número possível de triatomas, provenientes de várias regiões. Poder-se-á assim estabelecer quais as espécies existentes, sua distribuição geográfica e os seus índices de infecção pelo tripanosoma, nas diferentes zonas.

Para a captura e remessa de triatomas ao laboratório central será indispensável a colaboração de pessoas residentes no local, que deverão enviar os lotes acompanhados de indicações precisas sôbre a proveniência e condições de captura.

Martins e colbs. (54) realizaram em Minas Gerais, de acôrdo com sugestões de E. Chagas, estudos sôbre a distribuição e infecção de triatomas (\*). Foram examinados 7.300 triatomas, determinando-se a sua distribuição nas diferentes zonas, bem como os respectivos índices de infecção.

E' mister fazer no Estado de São Paulo inquérito idêntico, para coordenar, verificar e ampliar os dados publicados até o presente.

Realizada essa fase preparatória da investigação, devemos voltar a atenção para as zonas de triatomas infectados, nelas iniciando a procura dos casos, em larga escala.

Essa campanha, pela sua alta significação, faz jús ao apoio irrestrito das autoridades. Deve ser obtido o concurso dos médicos que clinicam nas zonas rurais, que tão valioso provou nas campanhas semelhantes feitas no Uruguay e na Argentina. E' mister sejam divulgados — sobretudo entre os médicos do interior, que têm a oportunidade de encontrar na sua clínica casos da moléstia — os conhecimentos principais acêrca da tripanosomose americana, segundo o conceito moderno, bem como os diferentes recursos de laboratório utilizáveis para o diagnóstico. Não deve ser esquecida a divulgação do aspecto com que se apresenta o complexo oftalmo-ganglionar e sua significação para o diagnóstico das formas agudas.

As noções essenciais sôbre a moléstia e a sua epidemiologia também devem ser vulgarizadas no seio da grande massa da população das zonas rurais. A compreensão e cooperação do povo são condições indispensáveis para o êxito de qualquer campanha sanitária.

Inquéritos devem ser feitos nas zonas de triatomas, nas épocas oportunas, por especialistas.

(\*) Pesquisas feitas no Instituto Biológico "Ezequiel Dias". Diretor: Prof. Otávio Magalhães.

Será inútil ressaltar a necessidade dos inquéritos “in loco”. Como diz Mazza (50) “desde los laboratorios confortables de las grandes ciudades, . . . es difícil realizar con fruto estas investigaciones”.

Nesses inquéritos devem ser utilizados todos os recursos eficientes que o laboratório põe ao nosso alcance para o diagnóstico da moléstia, a saber: gota espessa, inoculação do sangue, xenodiagnóstico, reação de fixação do complemento.

Na zona em estudo devemos ter sempre a atenção voltada para o encontro do complexo oftalmo-ganglionar. Fatos suspeitos serão a frequência de alterações do ritmo cardíaco nos indivíduos da região, bem como número elevado de mortes súbitas: poderá tratar-se da tripanosomose. A suspeita deve estar sempre presente, nas zonas onde existam triatomas infectados. Lembremos, por ser bastante expressiva, a original opinião de Talice e cols. (6): “El médico del interior que ejerza en la zona de endemia tripanosómica *deberá — frente a un niño de rancho o vivienda con vinchucas — pensar chágasicamente*”.

E' preciso que, entre nós, se faça uma investigação em larga escala. O grande vulto da obra a realizar exige que dela seja encarregada uma organização oficial, que conte com a cooperação geral; não poderá uma organização particular, embora bem aparelhada, levar a cabo tal empresa, integralmente. Aos especialistas dos nossos institutos científicos oficiais compete a orientação e realização do vasto inquérito epidemiológico.

Urge seja feito esse estudo da moléstia de Chagas em nosso país, à luz dos conhecimentos modernos. Será essa a melhor maneira de honrarmos a memória do Professor Carlos Chagas, o investigador genial que tanto brilho deu à medicina brasileira, no capítulo das grandes endemias tropicais.

#### BIBLIOGRAFIA CITADA

- (1) CHAGAS, C. — “Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz I(2): 159-218, 1909.
- (2) CHAGAS, C. — “Descoberta do Tripanozoma cruzi e verificação da Tripanozomíase Americana. Retrospecto histórico. — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XV(1): 67-76, 1922.
- (3) WENYON, C. M. — “Protozoology” Baillièrre, Tindall and Cox — London — 1926.
- (4) DIAS, E. — “O gênero *Schizotrypanum* Chagas, 1909” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXXIV(2): 193-227, jul. 1939.
- (5) BRUMPT, E. — “Précis de Parasitologie” — Masson et Cie. — Paris — 1936.
- (6) TALICE, R. V., COSTA, R. S., RIAL, B. e OSIMANI, J. J. — “Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana)” — A. Monteverde y Cia. — Montevideo — 1940.
- (7) DIAS, E. — “*Trypanosoma cruzi* ou *Schizotrypanum cruzi*?” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXIX(1): 203-227, nov. 1934.

- (8) DIAS, E. — “Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*” — Tese F. M. Univ. Rio de Janeiro. — Rio de Janeiro, 1933.
- (9) CHAGAS, E. — “Summula dos conhecimentos actuaes sobre a Trypanosomiasis americana” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXX(3):387-416, dez. 1935.
- (10) MAZZA, S. — “Otros mamíferos infectados naturalmente por *S. cruzi*, o *cruzi* símiles en provincias Jujuy y Salta” — Publ. n. 45 M.E.P. R.A., pp. 119-134, 1940.
- (11) MAZZA, S., MIYARA, S. e SANJURJO, H. E. — “Comprobación de animales domésticos y de nuevas especies de mamíferos silvestres portadores de *Schizotrypanum cruzi*, en los alrededores de la Ciudad de Mendoza” Novena reunión de la Soc. argent. de pat. reg. I: 548-559, 1936.
- (12) DIAS, E. — “Revisão geral dos hemoflagelados de Chirópteros. Estudo experimental do *Schizotrypanum* de *Phyllostomus hastatus*: Identidade com *Schizotrypanum cruzi*. O Grupo *Vespertilionis*” Novena reunião de la Soc. argent. de pat. reg. I: 10-88, 1936.
- (13) DIAS, E. — “Sobre um *Schizotrypanum* dos morcegos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXXV(2): 399-409, set. 1940.
- (14) DIAS, E. e ROMAÑA, C. — “Algumas investigações sobre *Schizotrypanum* de Quirópteros” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXXIV (4): 619-625, dez. 1939.
- (15) NEIVA, A. e LENT, H. — “Notas e commentarios sobre triatomídeos. Lista de especies e sua distribuição geographica” — Rev. entom. VI (2): 153-190, jul. 1936.
- (16) PINTO, C. — “Ensaio monographico dos reduvídeos hematophagos ou “barbeiros” Tese F. M. Univ. Rio de Janeiro — Empr. Graphica Ed. — Rio de Janeiro — 1925.
- (17) DIAS, E. — “Xenodiagnostico e algumas verificações epidemiologicas na molestia de Chagas” — Novena reunião de la Soc. argent. de pat. reg. I: 90-119, 1936.
- (18) TORRES, M. — “Alguns fatos que interessam á epidemiologia da molestia Chagas Mem. Inst. Oswaldo Cruz VII(1):120-138, 1915.
- (19) CARDOSO, F. A. — “Sur le mécanisme de la transmission de la maladie de Chagas” Ann. Parasit. Humaine et Comparée XVI(4): 341-349, jul. 1938.
- (20) HOARE, C. A. — “The transmission of Chagas' disease. A critical review” Trop. Dis. Bull. XXXI(11): 757-761, 1934.
- (21) BRUMPT, E. — “Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma cruzi*. Transmission de ce trypanosome par *Cimex rotundatus*. Rôle régulateur des hôtes intermediaires. Passage à travers la peau” Bull. Soc. path. exot. VI: 173-177, 1913.
- (22) HERR, A. e BRUMPT, L. — “Un cas aigu de maladie de Chagas contractée accidentellement au contact de triatomés mexicains: observation et courbe fébrile” — Bull. Soc. path. exot. XXXII(5): 565-571, 1939.
- (23) SOUZA CAMPOS, E. de — “Transmissão intrauterina do *Trypanosoma cruzi* na infecção experimental do cão”. — Ann. Fac. de med. de São Paulo III: 35-39, 1928.
- (24) MAZZA, S. e FREIRE, R. S. — “Manifestaciones cutáneas de inoculación, metastáticas y hematógenas en Enfermedad de Chagas” — Publ. n. 46 M.E.P.R.A., pp. 3-38, 1940.
- (25) CHAGAS, C. — “Tripanozomíase americana, forma aguda da doença” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz VIII(2): 37-60, 1916.
- (26) TALICE, R. V. — “Recherches personnelles sur une endémie ancienne et pourtant méconnue jusqu'ici en Uruguay, la maladie de Chagas ou trypanosomíase américaine” — Presse méd. (7): 854-855, mai, 1939.
- (27) CARDOSO, F. A. e ROSENFELD, G. — “Molestia de Chagas no Estado de São Paulo” — Rev. clín. S. Paulo. VII(5): 155-173, 1940.

- (28) BELTRÃO, R. — “Um caso de forma aguda de moléstia de Chagas observado em Santa Maria (R. G. do Sul)” — Arch. biol. S. Paulo XXIV (230):197-199, ago. 1940.
- (29) CHAGAS, E. — “Forma cardíaca da Trypanosomiase Americana” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXIV(3):89-125, out. 1930.
- (30) CHAGAS, E. — “Novos estudos sobre a forma cardíaca da Trypanosomiase americana” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXVI(3):329-338, 1932.
- (31) CHAGAS, C. — “Nova entidade morbida do homem (Rezumo geral de estudos etiológicos e clínicos)” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz III(2):219-275, 1911.
- (32) BRUMPT, E. — “O xenodiagnóstico: aplicação ao diagnóstico de algumas infecções parasitárias e em particular a tripanosomose de Chagas” — Ann. Paul. med. cir. III(5):97-101, nov. 1914.
- (33) PESSOA, S. B. e BARROS, N. V. de — “Creação do *Triatoma infestans* na temperatura de estufa” — Fol. Med. Rio XX(18):285-287, jun. 1939.
- (34) DIAS, E. — “Técnica do xenodiagnóstico na moléstia de Chagas” — Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXXV(2):335-342, ago. 1940.
- (35) GUERREIRO, C. e MACHADO, A. — “Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico (nota pr.)” Brasil med. Rio XXVII(23):225, jun. 1913.
- (36) MAZZA, S. — “Métodos de investigación de la epidemiología de la Enfermedad de Chagas. La viscerotomia cardio-hepática” — Publ. n. 43 M. E. P. R. A., pp. 3-19, 1940.
- (37) BONACCI, H. — “Nuevo medio de cultivo para el *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909” — Rev. Inst. bact., Buenos Aires VI(2):242-247, mar. 1934.
- (38) MAZZA, S., COSSIO, R. e ZUCCARDI, E. — “Primer caso agudo grave de enfermedad de Chagas comprobado en Tucumán y su tratamiento con “Bayer” 7602 (Ac.)” — Publ. n. 32 M.E.P.R.A., pp. 3-18, 1940.
- (39) MAZZA, S. e PATERSON, G. — “Tres casos de formas agudas de Enfermedad de Chagas, dos de inoculación cutánea en párpados, los tres sin conjuntivitis, tratados con 7602 (Ac.) Bayer; observados en San Pedro provincia Jujuy”. — Publ. n. 45 M. E. P. R. A., pp. 147-152, 1940.
- (40) BAYMA, T. — “Molestia de Carlos Chagas. (Nota sobre sua verificação parasitológica no homem, em S. Paulo)” — Rev. med. S. Paulo XVII(1):31, jan. 1914.
- (41) TALICE, R. V. — “Sobre el primer caso de enfermedad de Chagas comprobado en el Estado de Rio Grande del Sur (Brasil)” — Arch. urug. de med., cir. y especialid. XIV(6):558-566, jun. 1939.
- (42) CARINI, A. e MACIEL, J. — “Existencia da moléstia de Chagas no Estado de S. Paulo” — Ann. paul. med. cir. II(3):75-77, mar. 1914.
- (43) MEYER, C. L. — “Relatorio sobre a administração e os trabalhos do Instituto Bacteriológico durante o anno de 1914” — São Paulo — Typ. do Diario Oficial — 1915.
- (44) VILLELA, E. — “Forma aguda da doença de Chagas. Primeira verificação no Estado de S. Paulo” — Brasil med. Rio XXXII(9):65, mar. 1918.
- (45) BAYMA, T. — “Um caso de mixedema congenito. Apontamentos sobre a distribuição de triatomas no Estado de S. Paulo” — Rev. med. S. Paulo XVI(6):103-105, mar. 1913.
- (46) CARINI, A. e MACIEL, J. — “Distribuição dos triatomas no Estado de S. Paulo” — Ann. paul. med. cir. II(3):78-79, mar. 1914.
- (47) GOMES, J. F. — “Triatomas e moléstia de Chagas no Estado de S. Paulo” — Col. Tr. Inst. Butantan I:403-426, 1918.
- (48) BARROS, N. V. de — “Pesquisas sobre a moléstia de Chagas em São Paulo. I. Índice de infestação de triatomas, e infestação natural de cão pelo *Trypanosoma cruzi*, no município de Franca” — Rev. biol. hyg. S. Paulo IX(2):97-100, dez. 1938.

- (49) ROSENFELD, G. — “Presença de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) no Estado de S. Paulo” — Rev. clín. S. Paulo. VII(4):121, abr. 1940.
- (50) MAZZA, S. — “Nota a propósito de 240 casos de formas agudas de Enfermedad de Chagas comprobadas en el país por la M. E. P. R. A.” — Prens. med. argent. XXIV:1394-1396, jul. 1937.
- (51) MAZZA, S. — “Instrucciones para el diagnóstico de laboratorio de Enfermedad de Chagas” — Mision de Estudios de Patologia Regional Argentina. Instruccion n.º 1 (sem outras indicações).
- (52) TALICE, R. V., MEDINA, F. de e RIAL, B. — “Primer caso de enfermedad de Chagas en el Uruguay” — An. Fac. med. de Montevideo XXII:235-253, 1937.
- (53) TALICE, R. V. — “Epidemiologia de la enfermedad de Chagas en el Uruguay” — Arch. urug. de med. cir. y especialid. XIII(1):45-60, jul. 1938.
- (54) MARTINS, A., VERSIANI, V. e TUPINAMBÁ, A. — “Estudo sobre a Tripanosomiase americana em Minas Gerais, Brasil”. Mem. Inst. Oswaldo Cruz XXXV(2):285-301, jul. 1940.



## B. BRUNO ZARATIN

### 16.º TABELIÃO DE NOTAS

Comunica aos seus amigos ter instalado o seu Cartorio á rua Marconi, 100 — telefones 4-2880 e 4-2881 — onde aguarda o prazer de sua visita, colocando ao seu dispôr os serviços que lhe estão aféctos