

Clássicos & Comentários

4 – Cezar Guerreiro & Astrogildo Machado - Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico: nota preliminar

José da Rocha Carvalheiro
Nara Azevedo
Tania C. de Araújo-Jorge
Joseli Lannes-Vieira
Maria de Nazaré Correia Soeiro
Lisabel Klein
(orgs.)

SciELO Books / SciELO Livros / SciELO Libros

CARVALHEIRO, J. R., AZEVEDO, N., ARAÚJO-JORGE, T. C., LANNES-VIEIRA, J., SOEIRO, M. N. C., and KLEIN, L., eds. Cezar Guerreiro & Astrogildo Machado - Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico: nota preliminar. In: *Clássicos em Doença de Chagas: histórias e perspectivas no centenário da descoberta* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2009, pp. 179-186. ISBN: 978-65-5708-101-3.
<https://doi.org/10.7476/9786557081013.0009>.



All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença [Creative Commons Atribuição 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia [Creative Commons Reconocimiento 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



CEZAR GUERREIRO & ASTROGILDO MACHADO
Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas
como elemento diagnóstico: nota preliminar.
Brasil Médico, (23): 225-226, 1913.

Cezar Guerreiro (1885-1949)

Patologista paraense e pesquisador do Instituto de Manguinhos, contribuiu para o avanço na detecção da doença de Chagas, especialmente em sua fase crônica, a partir do desenvolvimento de um método de diagnóstico indireto da doença de Chagas, conhecido por Guerreiro e Machado.

Astrogildo Machado (1885-1945)

Pesquisador paulista, trabalhou em parceria com Cezar Guerreiro no desenvolvimento da reação Guerreiro e Machado. Dedicou-se ainda a pesquisas no campo da química e da imunologia, gerando importantes aperfeiçoamentos na técnica de preparo de soros.

Brazil-Medico

SUMMARIO

Trabalhos do Instituto Oswaldo Cruz: — *Revisão do cyclo evolutivo do Trypanozoma Cruzi*, pelo Dr. Carlos Chagas. *Da reacção de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnostico*, pelos Drs. Cezar Guerreiro e Astrogildo Machado.

Clinica das Vias Urinarias: — *Diagnoses sobre vias urinarias*, pelo Dr. Nuno Infante.

Clinica Medica: — *Pesquisas sobre a pathogenia do cancer* (continuação), pelo Dr. Keating Hart.

Associações Scientificas: — ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA: *Do tratamento da noma pelo "608"*, pelos Drs. Pinto Portello, Antonio Sattanini e Alvaro Guimarães. *Prophylaxia da syphilis e das molestias venereas*, pelos Drs. Neves Armond, Wernock Machado e Theophilo Torres.

Notas de Physiotherapia: — *Os banhos muito quentes na pneumonia dos adultos*, pelo Prof. G. Lomolne. *O tratamento medico da tuberculose chronica na infancia*. *Helioterapia*, pelo Dr. Bourdette. *Tratamento da bronchite, captiler e das broncho-pneumonias nas crianças*, pelo Dr. Feer. *A tecnica dos banhos frios na febra typhoide*, pelos Drs. Bassères e Coste. — por G. Armbrust.

Socium Demographicum: — *Ampliação da cidade do Rio de Janeiro*, por S. V.

Trabalhos do Instituto Oswaldo Cruz

Revisão do cyclo evolutivo do «Trypanozoma Cruzi»

PELO DR. CARLOS CHAGAS

(Chefe de serviço no Instituto Oswaldo Cruz)

Estudando o cyclo evolutivo do *Trypanozoma CRUZI*, agente da nova doença humana, observámos com muita constancia, nas cobayas infectadas, formas parasitarias no pulmão, que julgámos dever considerar, após demoradas verificações, como estado da evolução daquella parasito humano. E' certo que alguns factos, em nossas pesquisas, pareciam contradizer aquella conclusão e nos deixaram no espirito um ponto de duvida. Foi quando realizámos a primeira autopsia de um caso agudo de trypanozomíase humana e, em esfregações do pulmão, encontramos formas parasitarias inteiramente identicas ás da cobaya. Isso nos pareceu então constituir factó decisivo para considerar aquellas formas parasitarias do pulmão como fazendo parte do cyclo do *Schizotrypanum CRUZI*. Mais tarde, porém, o Dr. HENRIQUE ARAGÃO, assistente do Instituto, fazendo estudos em coelhos; observou no pulmão destes animaes formas parasitarias identicas áquellas das cobayas infectadas pelo *Schizotrypanum*. O Dr. ARAGÃO pôde ainda fazer identicas verificações em coelhos e cobayas normaes, sendo o factó confirmado pelas pesquisas dos Drs. CEZAR GUERREIRO e ASTROGILDO MACHADO, em cobayas e outros animaes, sem duvida, livres de infecção pelo *Schizotrypanum*. Assim, em preás, cabritos e carneiros, a mesma verificação foi realizada.

Deste modo, e apesar da nossa verificação no pulmão de um caso humano de trypanozomíase, somos levado a acreditar que as formas de protozoarios referidas representam um outro parasito e não fazem parte do cyclo do *Schizotrypanum CRUZI*.

Como explicar a presença de taes parasitos no pulmão humano?

Será o homem, como muitos animaes domesticos, passivel de ser parasitado por aquelle protozoario?

Essa hypothese não nos parece impossivel, dada a frequencia do parasito em diversas especies animaes. Ou teria havido, em nossas pesquisas, sem que possamos comprehendel-a, troca de laminas no momento das fixações e colorações do material humano? Nada nos auctorisa a essa conclusão, que registamos, entretanto, como possivel.

Cumpre ainda referir que o Dr. CARINI, do Instituto Pasteur de S. Paulo, observou em ratos parasitados pelo *Trypanozoma LEWISI* as mesmas formas parasitarias, e que M. e Mme. PIERRE DELANOE, depois de haverem confirmado a observação de CARINI, puderam encontrar o mesmo protozoario em ratos novos, livres de infecção pelo *Trypanozoma LEWISI*.

Os ultimos auctores crearam, então, para o parasito o genero *Pneumocystis*, denominando-o *Pneumocystis CARINI*.

A verificação da phase evolutiva do parasito, no pulmão de cobayas, constituia um dos elementos para o diagnostico experimental da trypanozomíase brasileira. Para substituir aquelle elemento, outro foi agora estabelecido, graças ás pesquisas dos Drs. CEZAR GUERREIRO e ASTROGILDO MACHADO, pelo processo de BORDET e GENGOU.

Manguinhos, 3 de Junho de 1913.

Da reacção de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnostico

PELOS DRS.

CEZAR GUERREIRO e ASTROGILDO MACHADO

(Nota preliminar)

Para confirmação do diagnostico clinico da trypanozomíase brasileira, recorria-se até agora tão somente á inoculação de sangue do doente em animaes receptiveis, cobayas de preferencia, e, aguardada a morte delles, á pesquisa da phase schizogonica no pulmão.

Mas, uma vez admittido o factó desta forma parasitaria, como se infere da nota publicada pelo Dr. CARLOS CHAGAS, não pertencer ao cyclo evolutivo do *Schizotrypanum CRUZI*, tal elemento de diagnostico não poderia mais ser levado em conta.

Com o intuito de obter um elemento seguro confirmativo daquillo que a clinica fornece, fomos encarregados pelo Dr. OSWALDO CRUZ de verificar, si usando de antigenos proprios, era possivel, nos sóros de animaes infectados, uma fixação de complemento, para dahi deduzir da sua utilização, como elemento de diagnostico.

Como antígeno, nesses ensaios preliminares, empregamos corpos de trypanozomas, assim obtidos: Um pequeno cão, apresentando uma infecção não muito forte pelo *Trypanozoma CRUZI*, foi sangrado no coração e, por este modo, retirados 50 c. c. de sangue, que foram misturados á igual quantidade de solução esteril de citrato de sodio a 2 %, com o fim de evitar

a coagulação. Esta mistura foi centrifugada durante 5 minutos em fraca velocidade e, então, com o máximo cuidado, retirado o liquido superjacente ao deposito, até a camada esbranquiçada que cobria os globulos. Este liquido foi novamente centrifugado em grande velocidade, dando no fundo do tubo um deposito esbranquiçado, rico em corpos de trypanozomas, o que se verificou ao microscopio; lavado esse deposito tres vezes com solução physiologica, foi então diluido até o liquido ficar fracamente opalescente.

Assim preparado, este antígeno não tem acção anti-complementar até a dose de 0,6 c. c.

Com os séros de 3 cães infectados, praticámos a reacção, conseguindo em todos elles um resultado positivo, impedimento quasi completo da hemolyse, exprimindo, talvez, este facto o ter sido empregado, com o fim de preparar o antígeno, o sangue de um animal que não apresentava uma infecção abundante.

Praticada a reacção em séros de doentes que já haviam apresentado trypanozomas na periphéria, e, por tal, certamente, portadores da trypanozomíase brasileira, também obtivemos resultados positivos.

Como o preparo deste antígeno exige grande cuidado, e não sendo possível, por meio d'elle, obter grandes quantidades, lançámos mão dos extractos de baço de cães novos, por ser elle o organo onde existe o parasito em maior quantidade.

Para esse fim, recolhíamos o baço, grandemente augmentado de volume, de cães novos infectados, verificando préviamente a intensidade da infecção, e trituravamos em um gral com 3 partes, em peso, de agua destillada phenicada a 1 %, deixando essa mistura na temperatura do ambiente, ao abrigo da luz, agitando-a frequentes vezes. Este producto era filtrado n'uma gaze e depois adicionado a igual volume da solução de chlorureto de sodio a 17 %, para assim ficar o titulo da solução definitiva com 0,85 de chlorureto de sodio e 0,5 de acido phenico. Após dous dias, era novamente filtrado em papel. Antes de ser empregado, verificavamos o seu poder anti-complementar.

Tambem foi empregado o extracto glicerinado, assim preparado: A' quantidade conhecida de polpa esplenica, ajuntavamos 2 partes, em peso, de glicerina de PRICE, trituravamos, deixando a mistura por 2 a 3 dias em temperatura do ambiente, agitando-a constantemente; filtrada, depois, em gaze e o filtrado, tratado pelo alcool absoluto, o que produzia precipitação muito abundante, nova filtração era feita, então, em papel, e, sobre esse mesmo filtro, era o precipitado retido lavado mais uma vez com alcool absoluto. Depois de secco, era este precipitado emulsionado na proporção de 2 % com agua physiologica a 0,85 % e acido phenico 0,5 %.

Conserva-se este producto na geleira 6 a 8 dias, e o liquido claro, que sobrenada, é então utilizado como antígeno. Com este processo tinhamos em vista, pelas lavagens repetidas com alcool absoluto, retirar os lipoides, que poderiam falsear a reacção.

Preparamos tambem extractos alcoolicos de fígado e baço de animaes muito infectados; elles, po-

rém, ao lado da fixação do complemento em presença de séros de animaes infectados e de doentes de trypanozomíase, tambem fixavam os anti-corpos syphiliticos. Os extractos aquoso, glicerinado ou de corpos de trypanozomas não fixam esses mesmos anti-corpos, préviamente demonstrados.

Para excluir a syphilis, ao lado da reacção alludida, praticámos a reacção de WASSERMANN, que era, em absoluto, independente dos resultados da primeira.

As combinações de soro e antígeno fóram feitas nas mesmas proporções da reacção de WASSERMANN, isto é, a 0,2 e 0,1 de soro ou antígeno.

Praticámos 102 ensaios com séros de doentes de diversas fórmias da molestia, obtendo 68 resultados positivos, ou 66,6 %.

Com o soro de casos cuja reacção fóra negativa, praticamol-a novamente, augmentando para 0,3 c. c. de soro e antígeno, conseguindo um resultado positivo, de modo que a percentagem acima representa, talvez, o coefficiente minimo.

De todos os antigenos empregados, o extracto aquoso de baço foi o que nos forneceu melhores resultados.

De agora em diante, utilizaremos o soro e antígeno na dose maxima de 0,3 c. c. e praticaremos de antemão a absorção dos amboseptores hemolyticos normaes do soro humano.

Um de nós (MACHADO) occupar-se-á da verificação com o antígeno preparado com baço de animaes inoculados com *Trypanosoma CRUZI* e o outro (GUERREIRO) procurará vêr, preparando antígeno com outras especies de trypanozomas e leishmanias, si fór possível, si a reacção constitue um phenomeno de grupo, o que não diminuirá em nada o valor diagnostico della, attendendo ser a molestia de CARLOS CHAGAS a unica trypanozomíase humana observada na America do Sul.

Manguinhos, 4 de Junho de 1913.

CLINICA DAS VIAS URINARIAS

Divagações sobre vias urinarias

PELO DR. NUNO INFANTE

Haverá vantagem no emprego do dilatador lavador de KOLLMANN, em substituição ao dilatador simples do mesmo autor?

Eis um assumpto que ha muito nos preoccupa e muito nos tem interessado. A observação vem nos demonstrando ter o dilatador de quatro ramos uma acção especial sobre a mucosa urethral, já bem conhecida de todos, mas, infelizmente, ainda para nós insufficientemente interpretada.

Não é uma acção methanica, assim como não nos parece ser uma acção dynamica; o facto é que as infiltrações duras entram em franco periodo de reabsorção, chegando a um certo gráo onde a investigação urethroskopica nos demonstra a existencia de uma urethra apresentando caracteres inteiramente diversos; vamos encontrar a presença de uma mucosa

Comentário

Contribuição da Reação de Guerreiro e Machado para o Diagnóstico da Doença de Chagas

Yara de Miranda Gomes

Laboratório de Imunoparasitologia, Departamento de Imunologia
Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz

Samuel Goldenberg

Instituto Carlos Chagas/Fiocruz

A reação de Guerreiro-Machado, também conhecida como teste de Machado-Guerreiro ou reação de Machado-Guerreiro, foi desenvolvida em 1913, quatro anos após a descoberta da doença de Chagas. Foi a primeira descrição de pesquisa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no soro de indivíduos chagásicos a adotar uma abordagem imunológica, a Reação de Fixação do Complemento (RFC), procedimento desenvolvido por Bordet e Gengou (1901) e empregado no diagnóstico da sífilis em 1906 (Wasserman, Neisser & Bruck, 1906). Podemos considerar a descrição da RFC para diagnosticar a doença de Chagas em sua fase crônica um fato relevante, uma vez que naquela época a confirmação do diagnóstico clínico era obtida por meio de teste parasitológico, inoculando-se o sangue do doente em cobaias. O resultado desse teste só era obtido após a morte do animal, quando se realizava a pesquisa de formas esquizogônicas no pulmão. No entanto, constatou-se que essas formas não pertenciam ao ciclo evolutivo do *T. cruzi*, e sim ao do *Pneumocystis carini* (Chagas, 1913), o que mostrou que o método não era seguro, razão pela qual foi abandonado.

No artigo de Guerreiro e Machado, de 1913, observa-se a preocupação com a obtenção de um diagnóstico seguro, bem como o cuidado com os procedimentos metodológicos. Nesse trabalho se fazem notar a genialidade e o conhecimento científico de Oswaldo Cruz, que os encarregou de verificar se, usando-se antígenos próprios (*T. cruzi* por eles obtidos), seria possível uma fixação do complemento no soro dos indivíduos infectados, para em seguida se avaliar o seu emprego no diagnóstico. A liderança científica de Oswaldo Cruz levou Guerreiro e Machado a obter antígenos do sangue, baço e fígado de cães infectados por meio de diferentes procedimentos que resultaram em extrato parasitário aquoso, glicerinado e alcoólico. Avaliando-se o desempenho desses antígenos na RFC, o extrato aquoso do baço

foi o que revelou os melhores resultados. O problema de reação cruzada também foi uma preocupação de Guerreiro e Machado, que para excluir a sífilis realizaram a reação de Wasserman. É importante ressaltar o pioneirismo de uma metodologia que era baseada na observação não do patógeno, mas da reação do hospedeiro a este, com o isolamento de moléculas para utilização em uma reação bioquímica. Considerando-se a época, início do século XX, podemos considerar esse teste uma inovação tecnológica e um salto qualitativo importante no diagnóstico da “doença de Carlos Chagas”, como denominada por Guerreiro e Machado.

O trabalho em equipe e o planejamento para as etapas de avaliação da RFC em indivíduos chagásicos são exemplo de condução de um trabalho científico: Machado se ocupou de verificar o desempenho do antígeno preparado com o baço de animais infectados com *T. cruzi* e Guerreiro, de preparar antígenos com outras espécies de tripanossomas e leishmanias.

A reação de Guerreiro-Machado foi submetida a várias modificações e padronizações ao longo do tempo (Almeida & Fife 1976; Almeida *et al.*, 1980; Almeida, 1984; Almeida & Cunha, 1981), conseqüência do próprio avanço das técnicas de cromatografia e purificação de antígenos, e utilizada em vários inquéritos epidemiológicos (Huggins *et al.*, 1969; Baldy *et al.*, 1978). A longevidade dessa técnica, o único teste disponível durante mais de cinquenta anos e utilizado em rotina para o diagnóstico da doença de Chagas (Luquetti, 2008), é algo a ser destacado. No entanto, como esse teste utiliza proteínas do sistema complemento que são extremamente termolábeis, esse reagente acabou se tornando inadequado para a reação, e além disso sua baixa sensibilidade e reprodutibilidade não satisfazem aos padrões exigidos atualmente (MS/SVA, 2005).

A reação de Guerreiro-Machado foi um marco importante no diagnóstico da doença de Chagas, e sua aplicação gerou resultados de importante impacto na saúde pública no século XX.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. O. Estudos sobre a reação de Guerreiro-Machado: análise cromatográfica de antígenos de *Trypanosoma cruzi*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79(3): 363-367, 1984.
- ALMEIDA, J. O. & CUNHA, T. A. Estudos sobre a reação de Guerreiro-Machado: efeitos da inativação do soro chagásico na fixação do complemento com antígenos de *Trypanosma cruzi*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76(3): 269-277, 1981.
- ALMEIDA, J. O. & FIFE, E. H. JR. Quantitatively standardized complement-fixation methods for critical evaluation of antigens prepared from *Trypanosoma cruzi*. Washington: Pan American Health Organization, 1976. (Scientific Publication, 319)
- ALMEIDA, J. W. R. *et al.* Comportamento evolutivo da reação de fixação do complemento quantitativa na fase crônica da doença de Chagas, sem influência do tratamento específico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22(2): 78-81, 1980.
- BALDY, J. L. S *et al.* Prevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi*, em 1975, em dois bancos de sangue de Londrina, Paraná, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 12: 409-416, 1978.
- BORDET, J. J. B. V. & GENGOU, O. Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. *Annales de l'Institut Pasteur*, 15: 289-302, 1901.
- CHAGAS, C. Revisão do ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. *Brasil Médico*, 27(23): 225, 1913.
- HUGGINS, D. *et al.* Inquérito sorológico para o diagnóstico da doença de Chagas entre doadores de um banco de sangue no Recife. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, IV(2): 105-112, 1969.

LUQUETTI, A. O. História dos métodos de diagnóstico para a doença de Chagas. Disponível em: <www.fiocruz.br/chagas>. Acesso em: 12 abr. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Consenso brasileiro em doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30, supl. III: 12-14, 2005.

WASSERMAN, A. P.; NEISSER, A. & BRUCK, C. Eline serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. *Deutsche Medicinische Wochenschrift*, 32: 745-746, 1906.