

Nova tripanozomiaze humana.

Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp.,
ajente etiologico de nova entidade morbida do homem

pelo

Dr. Carlos Chagas,

Assistente.

(Estampas 9 a 13 e 10 figuras no texto)

Ueber eine neue Trypanosomiasis des Menschen.

Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp.,
Erreger einer neuen Krankheit des Menschen

von

Dr. Carlos Chagas,

Assistenten.

(Mit Tafeln 9—13 und 10 Textfiguren)

Introdução.

Em 1907 fomos incumbido pelo diretor Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ, de executar a campanha anti-paludica nos serviços de construção da Estrada de Ferro Central do Brazil, na região norte do Estado de Minas Geraes. Tivemos informações da existencia ali do hematofago, denominado *barbeiro* pelos naturais da zona, que habita os domicilios humanos, atacando o homem á noite, depois de apagadas as luzes, ocultando-se, durante o dia, nas frestas das paredes, nas coberturas das cazas, em todos os esconderijos, enfim, onde possa encontrar guarida. De regra, é o hematofago visto em maior abundancia nas habitações pobres, nas choupanas de paredes não rebocadas e cobertas de capim. Ali a reprodução delle é consideravel; são encontrados em numero imenso nas frestas das paredes e constituem condição anti-vital das mais notaveis, pela dificuldade trazida ao repouzo do homem. Muita vez verificámos o ataque do homem pelo hematofago: Poucos minutos apoz a extinção da luz nos apo-

Einleitung.

Im Jahre 1907 wurde ich von Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ, Leiter des Institutes von *Manguinhos* beauftragt, die Bekämpfung der Malaria bei der Konstruktion der brasilianischen Zentralbahn im Norden des Staates *Minas Geraes* zu organisieren. Dasselbst hörte ich von dem Vorkommen eines gefürchteten blutsaugenden Insektes, das bei den Einwohnern als *Barbier (Barbeiro)* bekannt ist. Dasselbe lebt in den menschlichen Wohnungen, woselbst es nachts, nach Löschen der Lichter, die Bewohner angreift, während es bei Tage sich in den Spalten der Wände, in den Zimmerdecken und wo es sonst eine sichere Zuflucht findet, versteckt hält. In der Regel wird dieser Blutsauger in grösster Menge in den Wohnungen armer Leute gefunden, welche nicht getüncht und nur mit Gras gedeckt sind. Hier vermehrt derselbe sich so sehr, dass er in ungeheurer Menge auftritt und durch die Störung des Schlafes eine höchst ungünstige Wirkung ausübt. Ich war oftmals Zeuge der Angriffe dieser Blutsauger, welche in den

zentes saem elles dos esconderijos, em grande numero, e vêm picar os individuos, de preferencia no rosto. Acendendo-se o lume os hematofagos fojem rapidamente, sendo mesmo difficil, deste modo, a captura delles.

O hematofago só permanece nas habitações enquanto aí rezide o homem; das cabanas abandonadas bem depressa elle deza parece, certo pelo fato de auzencia de alimentação.

Entre os naturais é crença geral que o hematofago é inseto silvestre, vindo á noite, para o interior das cazas, onde se domicilia e se reproduz. Si assim é, não o sabemos, porquanto, nunca nos foi dado verificar aquelle fato e tambem porque nunca encontrámos o inseto fóra de habitações humanas.

E' o hematofago referido um hemiptero heteroptero, da familia *Reduviidae*, genero *Conorhinus*. A especie é, provavelmente, *megistus* BURM. (Est. 9). O estudo do inseto, especialmente a biologia delle, vai sendo feito na seção de zoologia do Instituto, pelo Dr. ARTHUR NEIVA, que do assunto, quando oportuno, dará conhecimento exato.

Examinando o conteúdo do intestino posterior de exemplares de conorrinos, colhidos em Minas Geraes, no interior de habitações humanas, verificámos ali a presença de numerosos flajelados com os caracteres morfológicos de critídias. Enviámos, então, hematofagos para o Instituto e, aí, o nosso diretor, Dr. OSWALDO CRUZ, tentou infetar um macaco da especie *Callithrix penicillata*, fazendo-o picar por diversos exemplares do hemiptero. Decorridos 20 ou 30 dias, apoz a picada, foram encontrados no sangue periferico daquelle macaco tripanozômos em grande numero, de morfologia inteiramente diversa da de qualquer das especies conhecidas do genero *Trypanosoma*.

Iniciámos, então, o estudo do flajelado, conseguindo, desde logo, infetar por inoculação diversos animais de laboratorio, cobaias, cães, coelhos e outros macacos.

O parasito mostra-se patojenico para todos esses animais, mais para os *Callithrix* e para as cobaias e muito menos para os cães que,

Wohnräumen wenige Minuten nach Auslöschten der Lichter in grosser Zahl aus ihren Schlupfwinkeln hervorkommen und die Bewohner mit Vorliebe im Gesicht stechen. Wenn man dann das Licht anzündet, so fliehen diese Schmarotzer mit grösster Geschwindigkeit, so dass es schwer hält, sie bei dieser Gelegenheit zu fangen.

In den Wohnungen verbleiben diese Tiere nur so lange, als der Mensch sie benützt; aus verlassenenen Hütten verschwinden dieselben sehr bald, wohl sicher in Folge mangelnder Nahrung.

Unter den dortigen Einwohnern herrscht allgemein die Ansicht, dass das blutsaugende Insekt ursprünglich im Walde lebt und nachts, vom Lichte angezogen, ins Innere der Häuser dringt, wo es sich niederlässt und weiter vermehrt. Ich bezweifle, dass es sich so verhält, da ich dieses Faktum nie beobachten konnte und das Insekt niemals ausserhalb menschlicher Wohnungen antraf.

Der erwähnte blutsaugende Schmarotzer gehört zu den *Hemiptera heteroptera*, zur Familie *Reduviidae* und in das Genus *Conorhinus* (Tafel 9). Die Species ist wahrscheinlich *megistus* BURM. Das Studium dieser Insekten und insbesondere ihrer Biologie wird in der zoologischen Abteilung des Institutes von Dr. ARTHUR NEIVA ausgeführt, der darüber zu gelegener Zeit eingehend berichten wird.

Bei der Untersuchung des Hinterdarmes von *Conorhinus*wanzen, welche im Staate *Minas Geraes* im Innern menschlicher Wohnungen gesammelt waren, konstatierte ich zahlreiche Flagellaten mit den morphologischen Charakteren der *Crithidien*. Ich sandte darauf solche Wanzen an das Institut, woselbst unser Direktor, Dr. OSWALDO CRUZ, einen kleinen Affen der Species *Callithrix penicillata* zu infizieren suchte, indem er denselben von verschiedenen Exemplaren dieser Wanzenart stechen liess. 20—30 Tage nach der Application wurden im peripherischen Blute dieses Affen zahlreiche Trypanosomiden gefunden, die sich morphologisch deutlich von den anderen Arten des Genus *Trypanosoma* unterschieden.

Ich begann hierauf das Studium dieser Flagellatenart, wobei es mir gleich anfangs

quando adultos, sobrevivem longamente á infecção. O *Callithrix* e as cobaias morrem em tempo variavel, geralmente com menos de 1 mez; a cobaia em pouco mais que o *Callithrix*; o mesmo acontece ao cão novo.

Dos animais experimentados, o mais sensível parece ser o *Callithrix*. Neste a infecção é sempre mais abundante do que nos outros animais e a ação patojenica tambem mais acentuada. Durante todo o evoluir da molestia, no *Callithrix*, como nos outros animais de laboratorio, os parasitos são vistos no sangue periferico, havendo fazes nas quais aumenta de modo sensível o numero de flajelados, o que parece indicar multiplicação periodica.

Já em nota anterior publicada nos «Arch. für Schiffs- und Tropenhygiene» fizemos referencia ao tripanozómida que estudamos, em sua evolução no conorrino e nos animais por elle infetados, tendo denominado, nesse comunicado, o parasito *Trypanosoma cruzi*. O modo de evoluer todo particular deste protozoario, como se verá no correr deste trabalho, pareceu-nos poder justificar a criação, para elle, de novo genero, o que fizemos, passando por isto a denominal-o *Schizotrypanum cruzi*.

Depois de haver estudado o duplo ciclo evolutivo do flajelado nos animais de laboratorio e no inseto transmissor e ignorando qual fosse o hospedeiro habitual do parasito, quizemos realizar novas pesquisas na zona onde havíamos encontrado os *conorhini* infetados, no intuito de esclarecer, si possível, aquella incognita. Foi de grande exito nesse ponto, o resultado a que chegámos, visto termos verificado ser o flajelado parasito do homem, agente etiolojico de entidade morbida bem caracterizada. Nem o fato foi, para nós, grande surpresa, porquanto, considerando os habitos do hematofago, que só habita os domicilios humanos, e nutre-se, de preferencia, de sangue do homem, era bem de admitir, de acordo ainda com a teoria filojenetica dos hemo-flajelados, pudesse o parasito em questão infetar a especie humana. E foi raciocinando deste modo que empreendemos exames de sangue

gelang, dieselbe durch Impfung auf verschiedene Laboratoriumstiere, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde und andere Affen zu übertragen. Der Parasit erwies sich für alle diese Tiere als pathogen, am meisten für *Callithrix*-affen und Meerschweinchen und viel weniger für den Hund, der, wenn erwachsen, die Infektion lange überlebt. Erstere Tiere sterben nach verschiedenen Zeiträumen, Meerschweinchen gewöhnlich vor Ablauf eines Monats und die Pinseläffchen wenig später; dasselbe beobachtet man bei jungen Hunden.

Von den Versuchstieren scheint die *Callithrix* am meisten empfindlich. Bei dieser ist die Infektion immer reichlicher und die pathogene Wirkung mehr ausgesprochen, als bei anderen Tieren. Während des ganzen Verlaufes der Krankheit aller dieser Versuchstiere erscheinen die Parasiten im peripheren Blute, indem die Zahl der Flagellaten zeitweise deutlich zunimmt, was eine periodische Vermehrung anzudeuten scheint. Ueber die Entwicklung der Trypanosomide in der Wanze und den damit infizierten Tieren habe ich im «Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene» schon vorläufig berichtet und sie «*Trypanosoma cruzi*» genannt. Die eigentümliche Entwicklung, über die ich in der vorliegenden Arbeit ausführlicher berichten werde, lässt es jedoch gerechtfertigt erscheinen, eine neue Gattung dafür aufzustellen, weshalb ich sie jetzt «*Schizotrypanum cruzi*» nenne.

Nachdem ich den doppelten Entwicklungsgang dieses Flagellaten im Versuchstiere und im übertragenden Insekte studiert hatte, ohne den gewöhnlichen Wirt zu kennen, wollte ich auch in der Zone, in welcher ich die infizierten *Conorhinus* angetroffen hatte, Untersuchungen anstellen, um, womöglich, auch dieses Problem aufzuklären. Das erhaltene Resultat erwies sich als von grosser Tragweite, da ich feststellen konnte, dass dieser Flagellat ein menschlicher Parasit und die Ursache eines eigenartigen und gut charakterisierten Krankheitszustandes ist. Uebrigens war diese Tatsache für mich nicht sehr überraschend; in Anbetracht der Gewohnheiten des Parasiten, welcher nur in Wohnungen lebt und sich mit Vorliebe von menschlichem Blute ernährt,

sistematicos nos individuos domiciliados nas cazas onde encontrámos *barbeiros*; procedemos ainda nelles a pesquisas semeioticas demoradas, afim de verificar a existencia de elementos morbidos caracteristicos de tripanozomiazes. Examinámos, tambem, o sangue de animais domesticos que pernoitavam nas habitações humanas. Desde logo verificámos a existencia de tripanozómida no sangue periferico do gato.

Infeção do homem.

A historia clinica da nova especie morbida humana é ainda muito deficiente, porquanto não nos foi dado acompanhar longamente doentes, estudando nelles, com a sequencia dezejavel, a sintomatolojia completa. Pouco sabemos do prognostico e das relações necessarias entre o evoluer da especie morbida e o ciclo do agente etiolojico, fatos de grande monta que vão depressa ocupar nossas pesquisas e dos quais procuraremos dar, oportunamente, minuciozo conhecimento.

No homem o que primeiro impressionou nossa atenção foi a existencia de conjunto de sintomas frequentes e uniformes, mais salientes nas creanças, sintomas que, desde logo se impunham a nosso raciocinio clinico como expressivos de entidade morbida autonoma. Eram delles os mais apreciaveis os seguintes:

Anemia profunda, com grande decadencia organica e, em muitas creanças, sensivel retardamento da evolução, e, nos adultos, infantilismo bem caracterizado; edemas, generalizados em alguns doentes, em outros, limitados a certas zonas; enfartamento ganglionar em todas as pleiades perifericas, podendo ser apreciados volumozos ganglios cervicais, axilares, crurais e inguinais; esplenomegalia, ás vezes consideravel, muito constante, sem que podesse ser atribuivel á infeção pelo impaludismo; hepatomegalia menos frequente; perturbações funcionais diversas, especialmente para o sistema nervozo, sendo de impressionar a condição intelectual precaria de muitas creanças, havendo, mesmo, muitos cazos de verdadeira imbecilidade.

konnte man — auch im Einklange mit der Theorie der phylogenetischen Entwicklung der Hämoflagellaten — annehmen, dass der fragliche Parasit den Menschen infizieren könnte. Von diesen Gedanken geleitet, unternahm ich eine systematische Blutuntersuchung bei den Bewohnern der Häuser, in welchen die «Barbeiros» gefunden wurden; zugleich nahm ich semeiotische Untersuchungen vor, um das Vorhandensein krankhafter Erscheinungen festzustellen, welche zur Kennzeichnung einer Trypanosomiasis dienen könnten. Ich untersuchte auch das Blut derjenigen Haustiere, welche in den menschlichen Wohnungen übernachteten, wobei ich gleich anfangs das Vorkommen des Trypanosoma im peripherischen Blute einer Katze konstatierte.

Die Infektion beim Menschen.

Die klinische Geschichte der neuen menschlichen Krankheitsart ist noch ungenügend, da ich nicht Gelegenheit hatte, einen Patienten längere Zeit zu beobachten und die ganze Symptomatologie mit wünschenswerter Genauigkeit zu verfolgen. Ueber die Prognose und die notwendigen Beziehungen zwischen dem Verlaufe des Krankheitsprozesses und dem Entwicklungszyklus des Erregers ist noch wenig bekannt; diese wichtigen Verhältnisse werden demnächst meine Aufmerksamkeit beschäftigen und ich hoffe, später darüber ausführlicher zu berichten.

Was beim Menschen zuerst meine Aufmerksamkeit erregte, war das Bestehen eines Komplexes von häufigen und übereinstimmenden Symptomen, welche bei Kindern auffallender waren; sie erschienen bei der klinischen Beobachtung sofort als Ausdruck einer selbständigen Krankheitseinheit. Am deutlichsten waren die folgenden zu erkennen: Hochgradige Anämie mit starkem organischen Verfall und eine im Verhältnis zum Alter auffällige Verspätung der Entwicklung mit ausgesprochenem Infantilismus; Oedeme, die bei einigen Patienten generalisiert, bei anderen auf gewisse Zonen beschränkt waren; Lymphdrüenschwellungen, die an allen peripheren Gruppen zum Ausdruck kam, so dass ich grosse Nacken-, Achsel-, Schenkel- und Leistendrüsen beobach-

De informações cuidadosamente colhidas deduzimos ser muito grande a letalidade de creanças na zona. Referem os naturais como muito frequentes as convulsões infantis, em diversas idades, atribuindo áquelle síndrome a maioria de mortes das creanças. Ou assim é, morrem as creanças com predomínio de sintomas para o lado do sistema nervoso, ou apresentam, nos últimos estádios de molestia fatal, verdadeira hidropizia, comparável á da anquilostomíase. E esse último fato dá razão ás duas denominações pelas quais a molestia é conhecida pelos naturais, a de *opilação* e a de *canguary*, nomes dados pelo povo, em outras zonas onde grassa, á anquilostomíase. Julgámos dever excluir a intervenção desta molestia do quadro morbido observado e para isso, apesar da ausência de sinais clínicos daquela verminose, procedemos a muitos exames de fezes, com resultado negativo, naquelles doentes cujo aspecto morbido referimos.

Foi do modo seguinte que verificámos a infecção do homem pelo flajelado:

Em diversas habitações humanas, onde existiam *barbeiros*, em cujo intestino encontramos abundantes fórmias de critídias, fizemos uma primeira vez exames de sangue, mais demorados nos doentes com a sintomatologia referida. Nesta primeira pesquisa, cumpre observar, limitámo-nos a examinar, de cada doente, uma gota de sangue entre lamina e laminula, o que, de alguma forma, justifica o resultado negativo a que chegámos. Quatro dias depois, porém, chamado para medicar uma creança em estado grave, creança cujo sangue havíamos também examinado, verificámos, em pesquisa no estado vivo, a presença de flajelados no sangue periférico. Córandos preparados de sangue pelo método de GIEMSA concluímos ser o flajelado observado tripanozómida, de morfologia inteiramente idéntica á do *Schizotrypanum cruzi*, cuja biologia estudávamos no laboratório, em animais inicialmente infetados por exemplares de *conórhini*, provenientes da mesma zona onde fazíamos as atuais pesquisas.

Imediatamente apoz esta verificação inoculámos duas cobaias e um sagui com sangue

ten konnte; eine sehr konstante und oft beträchtliche Milzschwellung, welche nicht auf Malaria zurückgeführt werden konnte; weniger häufig Leberschwellung; endlich verschiedene funktionelle Störungen, besonders des Nervensystems, wobei namentlich der prekäre Zustand der Intelligenz auffiel, so dass sogar viele Fälle von wirklicher Imbecillität vorkamen.

Aus sorgfältig erhobenen Informationen entnahm ich, dass in der Zone die Kindersterblichkeit eine grosse war, wobei von den Einwohnern Konvulsionen als besonders häufig und auf verschiedenen Altersstufen auftretend angegeben und diesem Symptome die meisten Todesfälle unter den Kindern zugeschrieben wurden. Entweder sterben die Kinder in dieser Weise, unter vorherrschenden Symptomen von Seiten des Nervensystems, oder sie zeigen in den letzten Stadien der tödlichen Erkrankung eine wirkliche Wassersucht, welche mit derjenigen bei Ankylostomiasis vergleichbar ist. Letztere Tatsache rechtfertigt die beiden Benennungen, unter welchen die Krankheit unter den Einwohnern bekannt ist, nämlich «*Opilação*» und «*Canguary*», Namen welche von dem Volke in anderen Zonen, wo dieselbe herrscht, der Ankylostomiasis gegeben werden. Ich glaubte, den Einfluss letzterer Krankheit bei dem beobachteten Krankheitsbilde ausschliessen zu müssen und habe deshalb, ungeachtet des Fehlens klinischer Zeichen dieser Wurmkrankheit, bei Kranken mit den geschilderten Erscheinungen zahlreiche Fäkaluntersuchungen vorgenommen, welche ein negatives Resultat ergaben.

Die Infektion des Menschen durch den Flagellaten wurde von mir in folgender Weise festgestellt:

In verschiedenen menschlichen Wohnungen, wo «*Barbeiros*» vorkamen, in deren Darmschleim ich reichlich *Crithidien*-formen gefunden hatte, machte ich eine erstmalige Blutuntersuchung, welche bei Patienten mit der oben angeführten Symptomatologie besonders eingehend war. Bei dieser ersten Untersuchung wurde, wie hier bemerkt sei, von jedem Patienten nur ein Blutstropfen im feuchten Deckglaspräparat untersucht, was das negative Resultat, zu dem ich gelangte, einigermaßen

retirado, por punção venoza, da creança. As cobaias morreram no 6.º dia apoz a inoculação e no pulmão de ambas encontrámos fôrmas parasitarias, inteiramente identicas ás que temos estudado no ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*. O *Callithrix*, 8 dias depois da inoculação apresentou na circulação periferica flajelados de morfologia identica a do tripanozómida estudado.

Outro resultado positivo foi obtido quazi simultaneamente, por inoculação do sangue de creança de 2 anos em duas cobaias. Tratava-se de doente muito anemiado, com volumozos ganglios axilares, cervicais e inguinais, esplenomegalia, edema sub-palpebral, decadencia organica acentuada. Este doente era frequentes vezes acometido de acessos febris. Em exame de gotas de sangue periferico, entre lamina e laminula, assim como em exame do material retirado dos ganglios, nada obtivemos, pelo que dado o aspeto clinico caracteristico do doente, resolvémos tentar a inoculação de animais sensiveis. As duas cobaias morreram, uma dellas no 2.º dia, sem que podessemos verificar a presença de parasitos, parecendo ter sido accidental a morte; a outra cobaia, porém, morreu no 9.º dia apoz a inoculação e no pulmão desta verificámos grande abundancia de fôrmas parasitarias inteiramente identicas ás das cobaias da experiencia anterior. Não encontrámos no sangue periferico desta cobaia, em exame rapido, flajelados, o que significa o estado inicial da infeção e a pequena quantidade de material pesquisado.

Terceiro resultado positivo foi-nos fornecido ainda por inoculação em cobaia. Tratava-se de creança de 6 anos, em condição morbida intensa, espressando-se em profunda anemia, edemas generalizados, perturbações funcionais do sistema nervozo. Ao exame fisico encontrámos grandes ganglios cervicais e axilares. O exame do sangue, em epoca de apirexia, exame de gota entre lamina e laminula, foi de resultado negativo, pelo que inoculámos cobaia. Esta, 20 dias depois, apresentava flajelados na circulação periferica e 2 mezes depois era intensa a infeção, tendo sobrevivido até agora o animal.

rechtfertigt. Als ich jedoch nach vier Tagen zur Behandlung eines schwer kranken Kindes gerufen wurde, dessen Blut ich schon zuvor untersucht hatte, konstatierte ich die Gegenwart lebender Flagellaten im peripheren Blute. In nach GIEMSA gefärbten Blutausrichen erkannte ich in dem Flagellaten ein Trypanosoma, das morphologisch gänzlich übereinstimmte mit dem *Schizotrypanum cruzi*, dessen Biologie ich im Laboratorium studiert hatte und zwar an Tieren, welche ursprünglich durch *Conorhinus*-exemplare infiziert worden waren, die aus der Zone stammten, in welcher wir zur Zeit unsere Untersuchungen machten.

Nach diesem Befunde impfte ich sofort zwei Meerschweinchen und ein *Callithrix*-äffchen mit durch Venenpunktion entnommenem Blute des Kindes. Die Meerschweinchen starben am sechsten Tage nach der Impfung und in den Lungen beider wurden parasitäre Formen gefunden, welche mit den, im Entwicklungsstadium von *Schizotrypanum cruzi* studierten, vollkommen übereinstimmten. Die *Callithrix* zeigte acht Tage nach der Impfung im peripherischen Blutkreislaufe Flagellaten mit denselben Formen, wie die der studierten Trypanosomide.

Ein anderes positives Resultat wurde fast gleichzeitig erzielt, indem das Blut eines acht Jahre alten Kindes zwei Meerschweinchen eingepft wurde. Es handelte sich um einen Patienten mit starker Anämie, voluminösen Axillar-, Cervical- und Inguinaldrüsen, Milzschwellung, Oedem der Augenlider und ausgesprochenem organischen Verfall. Er litt auch an häufigen Fieberanfällen. Bei der Untersuchung von Tropfen des peripherischen Blutes im feuchten Präparate und ebenso bei einer solchen von Lymphdrüsenmaterial fand ich nichts, weshalb ich, im Hinblick auf das charakteristische klinische Bild des Patienten beschloss, die Uebertragung auf sensible Tiere zu versuchen. Beide Meerschweinchen starben, eines davon am zweiten Tage, ohne dass ich das Vorhandensein von Parasiten konstatieren konnte, während der Tod zufällig erfolgt zu sein schien; das andere Meerschweinchen starb dagegen am neunten Tage nach der Einimpfung und in den Lungen desselben fand

Convém afirmar a absoluta impossibilidade de infecção acidental dos animais em experiência, os quais se achavam continuamente em gaiola de tégula fina, ao abrigo de picadas de qualquer hematofago. E por outro lado, estando estes resultados inteiramente de acordo com experiências de laboratório que obedeceram ao maior rigor de técnica, isentas de qualquer causa de erro, foram elles decisivos, dando margem, desde logo, a conclusões definitivas.

O flajelado obtido no *Callithrix* por inoculação de sangue humano parasitado acha-se no laboratório e tem servido para a continuação de novas pesquisas. Os *Callithrix* morrem um mez e meio apoz a inoculação com flajelados no sangue periferico e fórmulas parasitarias no pulmão, idênticas ás da scobaias.

Vamos referir a historia clinica dos dois doentes, em cujo sangue verificámos a presença do *Schizotrypanum cruzi*.

I. BERENICE, de côr branca, 2 anos de idade, brasileira, nascida na mesma zona onde se encontra. A anamnese ensina: Ausencia completa de fenomenos morbidos até a presente molestia, cujo inicio é referido á 4 mezes antes. As primeiras manifestações morbidas constaram de acessos febris intensos intermitentes, entrando a creança, desde essa ocasião, em franca decadencia organica. Depois dos primeiros ataques de reacção febril a doente tinha periodos longos de apirexia, interrompidos de acessos febris de pouca duração. Não foram referidas perturbações funcionais do sistema nervoso.

Condição morbida actual: Palidez consideravel, aspeto *bouffu*, edema sub-palpebral constante e edemas fugazes na testa e membros. No primeiro exame, quando auzentes parasitos do sangue periferico, a doente achava-se apiretica; quatro dias depois, porém, quando encontrámos flajelados, a creança tornou-se febril, atinjindo a temperatura 40°, no primeiro acesso; a este seguiram-se tres outros nos dias consecutivos, começando a elevação de temperatura depois de meio dia e prolongando-se pela noite. Havia, nas primeiras horas do dia, algumas horas de apirexia.

ich eine grosse Anzahl parasitärer Formen, welche mit denjenigen des Meerschweinchens im obigen Versuche vollständig übereinstimmten. Bei einer kurzen Untersuchung fand ich im peripheren Blute dieses Meerschweinchens keine Flagellaten, was auf das Anfangsstadium der Infektion und geringe Menge des untersuchten Materials deutet.

Ich erhielt noch ein drittes positives Resultat durch die Impfung eines Meerschweinchens. Es handelte sich um ein sechsjähriges Kind in ausgesprochenem Krankheitszustande; derselbe äusserte sich in starker Anämie, generalisierten Oedemen und funktionellen Störungen von Seite des Nervensystems. Bei der Untersuchung konstatierte ich grosse Cervical- und Axillardrüsen. Die einmalige Untersuchung eines Blutstropfens unter dem Deckglase, welche während der Apyrexie vorgenommen wurde, ergab nichts, weshalb ein Meerschweinchen geimpft wurde. Dieses zeigte zwanzig Tage später Flagellaten in der peripherischen Zirkulation und zwei Monate darauf war die Infektion eine sehr lebhaft; doch ist das Tier bisher am Leben geblieben.

Es ist hier auch am Platze, die absolute Unmöglichkeit einer zufälligen Infektion der Versuchstiere anzuführen, welche sich, vor Stichen geschützt, in Käfigen von feiner Drahtgaze befanden.

Diese Ergebnisse stehen nun völlig im Einklange mit Laboratoriumsexperimenten, welche mit sorgfältigster Technik ausgeführt wurden und frei von jeder Fehlerquelle sind; so waren sie entscheidend und gestatteten ohne weiteres bestimmte Schlüsse.

Die Flagellaten, welche bei der *Callithrix* durch Einspritzung parasitenhaltigen menschlichen Blutes erhalten wurden, werden stets im Laboratorium gezüchtet und haben zur Fortsetzung neuer Versuche gedient. Der Affe starb 1½ Monate nach der Inokulation, mit Flagellaten im peripheren Blute und Parasitenformen in den Lungen, welche mit denjenigen der Meerschweinchen übereinstimmten.

Ich gebe hier die klinische Geschichte der beiden Patienten, in deren Blute ich das Vorhandensein von *Schizotrypanum cruzi* konstatierte.

Exame físico: Grande numero de ganglios cervicais, alguns bem volumozos, nas rejiões sub-maxilar, esterno cleido-mastoidea e na infra-clavicular. Diversos ganglios volumozos nas rejiões axilares, inguinais e crurais. Baço crecido, estando perceptivel, pela apalpação, sob a arcada costal. Area de matidez esplenica muito aumentada. Certo gráu de esplenalja. Hepatomegalia. O figado está aumentado para cima e para baixo. Dôr á pressão do orgão, abaixo do rebordo costal e tambem no epigastrio. Aparente urinario: Leves vestijos de albumina na urina. Micções normais. Sistema nervozo: Grande agitação e delirio nos periodos de maxima elevação termica.

Sangue: Dia 14-4-09 — Tripanozómidas no sangue periferico, em numero não muito grande, sendo vistos de 15 a 20 em gota, entre lamina e laminula.

Dia 17-4-09 — A doente esteve febril durante a noite; tripanozómidas no sangue periferico, em numero sensivelmente menor que no exame anterior.

Dia 23-4-09 — A doente achava-se apiretica, desde 2 dias; tripanozómidas em menor numero, sendo com dificuldade verificaveis nos preparados vivos. Foi esta a ultima pesquisa que nos foi dado fazer nesta doente.

II. JOSÉ, de 8 anos, côr preta, nacido na zona. A anamnese refere: Estado morbido desde 2 anos, espressando-se em grande fraqueza geral, edemas mais ou menos demorados na face e membros inferiores, acessos febris periodicos. Estado atual: Esteve febril 8 dias antes do nosso exame e no momento achava-se apiretico, notando-se, porém, salientes, os seguintes sintomas morbidos: edema palpebral, grande palidez com aspeto *bouffu*, ganglios cervicais, axilares e inguino-crurais engurjitados. Esplenomegalia acentuada e tambem hepatomegalia. Ausencia de perturbações funcionais do sistema nervozo.

Sangue: Dia 14-4-09 — Exame de preparado vivo, entre lamina e laminula, negativo; assim o exame de material retirado pela punção ganglionar.

I. BERENICE, zweijährige, weisse Brasilianerin, am Orte der Untersuchung geboren. Die Anamnese ergibt ein vollständiges Fehlen von Krankheitserscheinungen bis zum Beginne der gegenwärtigen Affektion, welche auf vier Monate früher angegeben wird. Die ersten Krankheitserscheinungen bestanden in sehr heftigen intermittierenden Fieberanfällen, wobei sich an der Kranken von dieser Zeit an ein deutlicher organischer Verfall zeigte. Nach den ersten Fieberanfällen hatte die Patientin längere Perioden von Apyrexie, die von kurz dauernden febrilen Accessen unterbrochen wurden. Funktionelle Störungen von Seite des Nervensystems wurden nicht angegeben.

Gegenwärtiger Krankheitsbefund: Bedeutende Blässe, gedunsenes Aussehen, beständiges Oedem der Augenlider und flüchtige Oedeme an Stirne und Extremitäten. Bei der ersten Untersuchung, als die Parasiten im peripheren Blute fehlten, war sie apyretisch; vier Tage darauf jedoch, als wir die Parasiten in demselben fanden, wurde das Kind fieberisch, wobei die Temperatur im ersten Anfalle 40 Grad erreichte; auf diesen folgten in den nächsten Tagen drei andere Accessen, bei welchen die Temperatursteigerung nach der Mittagsstunde eintrat und sich bis in die Nacht verlängerte. Zu Anfang des Tages gab es einige fieberfreie Stunden.

Untersuchung der Kranken: Grosse Anzahl von, zum Teil voluminösen, Drüsen am Halse, in den Submaxillar-, Sterno-cledomastoideal- und Supraclaviculargegenden. Verschiedene beträchtliche Drüsenschwellungen in den Axillar-, Inguinal- und Cruralregionen. Milz vergrößert, unter dem Rippenbogen der Palpation zugänglich; die Dämpfung deutlich erweitert, auch ein gewisser Grad von Splenalgie ist vorhanden. Leber vergrößert und zwar sowohl nach oben, wie nach unten. Beim Druck auf dieselbe unter dem Rippenbogen und im Epigastrium wird Schmerz empfunden.

Harnapparat: Leichte Spuren von Albumin im Urin. Mictionen normal.

Nervensystem: Grosse Aufregung und Delirien während der Perioden höchster Temperatursteigerung.

Blut: 14-IV-09. Trypanosomen im peri-

Dia 17-4-09 — Negativo o exame de gota entre lamina e laminula. Inoculadas nesse dia 2 cobaias com sangue obtido por punção venosa, morreram 12 dias depois e apresentaram no pulmão grande numero de formas esquizogonicas. Este doente, como a precedente, continua sob observação clinica.

III. JOAQUINA, de 6 annos, do sexo feminino, côr parda. Doente desde 6 mezes com acessos febris irregulares. Grande decadencia organica. Edema generalizado mais accentuado no rosto e nos membros inferiores. Ganglios do pescoço, especialmente os da rejão cleido-mastoidéa, muito volumozos. Baço aumentado e dolorozo á palpação. Insonias repetidas e agitação noturna.

Sangue: Pesquisa de gota entre lamina e laminula, negativa. Verificação da infeção pela presença de flajelados em cobaia inoculada.

Morfolojia e evolução do *Schizotrypanum cruzi* no organismo dos vertebrados.

No sangue periferico dos animais infetados o *Schizotrypanum cruzi* apresenta duas fazes distintas de evolução, a de organismos intraglobulares e a de flajelados livres no plasma.

No inicio da infeção, isto é, quando tem logar o aparecimento dos primeiros flajelados no sangue periferico, as fórmulas intraglobulares são mais abundantes, sendo nesta faze, ás vezes, as unicas encontradas na circulação periférica. O aspeto dos tripanozómidas intra-globulares é variavel: ora se acham elles inteiramente incluídos no globulo vermelho, de modos diversos, formando ás vezes circulo, ou colocados transversalmente, ora têm parte incluída na hemátia e outra livre no plasma, ora, finalmente, o que é aspeto muito frequente, são vistos prezos á hemátia só pelo blefaroplasto. A incluzão de tripanozómidas em hemátias, mais abundantes no inicio da infeção é vista em menor numero, em qualquer outra faze da molestia, o que indica ser aquelle fenomeno condição biologica no ciclo evolutivo do protozoario.

pherischen Blute in nicht sehr grosser Anzahl, indem etwa 15—20 in einem Tropfen zwischen Objectträger und Deckglass gesehen werden.

17-IV-09. Patientin hat während der Nacht Fieber gehabt; Trypanosomen im peripherischen Blute in deutlich geringerer Anzahl, als bei der letzten Untersuchung.

23-IV-09. Die Patientin ist seit zwei Tagen ohne Fieber; Trypanosomen in geringerer Zahl und im frischen Präparate nur mühsam nachzuweisen. Es war dies die letzte Untersuchung, welche ich bei der Kranken machen konnte.

II. JOSÉ, achtjähriger Mulattenjunge, in der Zone geboren.

Die *Anamnese* ergibt:

Seit zwei Jahren ein krankhafter Zustand, der sich in grosser allgemeiner Schwäche, mehr oder weniger dauernden Oedemen im Gesicht und an den unteren Gliedmassen, sowie in periodischen Fieberanfällen äussert.

Gegenwärtiger Zustand: Acht Tage vor unserer Untersuchung hat er Fieber gehabt, gegenwärtig ist er apyretisch, dagegen treten folgende Krankheitssymptome deutlich hervor: Oedem der Augenlider, grosse Blässe mit gedunsenem Aussehen, angeschwollene Cervical-, Axillar- und Inguinocruraldrüsen. Ausgesprochene Splenomegalie und auch Leberschwellung vorhanden. Funktionelle Störungen von Seite des Nervensystems nicht nachzuweisen.

Blut: 14-IV-09. Untersuchung im frischen Zustande, negativ; ebenso eine solche von durch Drüsenpunktion erhaltenem Material.

17-IV-09. Untersuchung eines Bluttröpfens im frischen Präparate negativ. Zwei mit, durch Venenpunktion erhaltenem, Blute geimpfte Meerschweinchen starben nach 12 Tagen und zeigten in den Lungen grosse Mengen von Schizogoniformen. Der Patient bleibt, wie der vorige, in klinischer Beobachtung.

III. JOAQUINA, sechsjähriges Mulattenmädchen. Seit sechs Monaten krank, mit unregelmässigen Fieberanfällen. Starker organischer Verfall. Allgemeine Oedeme, im Gesichte und an den unteren Gliedmassen mehr ausgesprochen. Ganglien des Halses, besonders der Cleido-mastoidealregion, sehr volumiös. Milz geschwollen und auf Druck empfindlich. Wie-

Desde o estágio intra-globular é bem saliente no tripanozóida dualismo morfológico, permanecendo este em todas as fases do ciclo evolutivo. Este dimorfismo, que se espessa mesmo nos preparados defeituosamente fixados após dessecação e que melhor se caracteriza, de modo exato, quando são os preparados fixados húmidos, consta principalmente de diversidade de forma e de dimensões do blefaroplasto e do núcleo, como será verificado nas descrições seguintes.

Apresentando o tripanozóida algumas variantes morfológicas conforme o mamífero infetado pensamos mais conveniente estudar a morfologia do parasito adulto nos três principais hospedeiros vertebrados, homem, sagui e cobaias, em seguida descrevendo as diversas fases do ciclo evolutivo na cobaia e no sagui, principais animais que serviram para nossas experiências.

Schizotrypanum cruzi no sangue periferico do homem.

Os exames do parasito no sangue de nossa primeira doente só foram feitos com fixação, após dessecação, e coloração pelo método de GIEMSA, o que ocasiona certa deficiência nos dados morfológicos obtidos. Verdade é que temos conhecimento exato da morfologia do tripanozóida humano inoculado no *Callithrix*, conhecimento fornecido pela fixação a húmido e coloração pela hematoxylina ferrea (método de ROSENBUSCH) o que vem garantir a verdade de nossa descrição.

No sangue humano observamos dois aspectos morfológicos bem distintos do tripanozóida:

Uma das formas apresenta grande blefaroplasto ovoide, colocado muito próximo ou exatamente na extremidade posterior do parasito, com o maior diâmetro transversal. A fixação a seco determina ver-se, de regra, saliências laterais do blefaroplasto, o qual se apresenta com aspecto de barra de cromatina transversal, com as partes laterais não cercadas de plasma. É frequente observar-se, nesta forma, como apêndice do blefaroplasto

derholte Schlaflosigkeit und nächtliche Aufregung.

Blut: Untersuchung eines frischen Präparates negativ. Feststellung der Infektion durch Auffinden von Flagellaten bei einem geimpften Meerschweinchen.

Morphologie und Entwicklung des Schizotrypanum cruzi im Organismus der Wirbeltiere.

Im peripherischen Blute der infizierten Tiere zeigt das *Schizotrypanum cruzi* zwei verschiedene Entwicklungsphasen: diejenige des intraglobulären Organismus und die der im Blutplasma frei vorkommenden Flagellaten. Zum Beginne der Infektion, d. h., wenn die ersten Flagellaten im Blute erscheinen, sind die intraglobulären Formen zahlreicher vorhanden und nicht selten in dieser Phase die einzigen, welche in dem peripheren Blutkreislauf gefunden werden. Ihr Aussehen ist ein wechselndes: bald befinden sie sich im roten Blutkörperchen vollständig eingeschlossen, indem sie manchmal kreisförmig, manchmal transversal gelagert sind, bald haben sie einen Teil im Innern des Blutkörperchens und den andern frei im Plasma oder endlich, was sehr häufig zu sehen ist, sind sie nur durch den Blepharoplasten mit den Hämatien verbunden. Der Einschluss der Trypanosomen in den Blutkörperchen, welcher zu Anfang der Infektion häufiger ist, wird in den anderen Phasen der Krankheit seltener gesehen, was darauf hinweist, dass diese Erscheinung einen biologischen Zustand im Entwicklungszyklus des Protozoons darstellt.

Schon vom intraglobulären Stadium an, zeigt sich beim *Schizotrypanum* sehr deutlich ein morphologischer Dualismus, welcher in allen Entwicklungsphasen weiter besteht. Dieser Dimorphismus, welcher auch in getrockneten und mangelhaft fixierten Präparaten zum Ausdruck kommt und sich genauer und deutlicher kennzeichnet, wenn der Parasit feucht fixiert wird, zeigt sich besonders in der Verschiedenheit von Form und Dimensionen des Kernes und Blepharoplasten, wie man aus den folgenden Beschreibungen ersehen kann.

segundo elemento cromático, a elle intimamente ligado e que corresponde ao fuзо central e ao rizoplasto bem apreciavel nos preparados fixados humidos. O nucleo principal tem geralmente fórma ovoide ou se apresenta como longa faixa de cromatina, colocada no sentido longitudinal, aspeto este que parece indicar faze atrasada na evolução do nucleo. E' frequente observar-se, no interior do nucleo, corpusculo de cromatina mais intensamente córado e que corresponde ao cariozoma.

A membrana ondulante apresenta-se com variavel numero de ondulações dependentes, naturalmente, das condições de movimento do parazito no momento da fixação. O flajelo, cuja origem apreciavel é ou o proprio blefaroplasto ou a o elemento cromático já citado apenso áquelle, passa de uma para outra extremidade do organismo, geralmente nas imediações do nucleo ou exatamente ao nivel deste e apresenta porção livre de comprimento variavel, sempre mais curta que na outra fórma que vamos em seguida descrever. A extremidade anterior do parazito é afilada, sendo o flajelo livre acompanhado até certa altura por delgado prolongamento do plasma.

A outra fórma, observada no sangue humano distingue-se da precedente, sobretudo, pelo tamanho e aspeto do blefaroplasto e do nucleo.

Aqui o blefaroplasto é mais ou menos esferico situado na extremidade posterior do organismo e muito menor que a da fórma anterior não apresentam de regra, pela tecnica uzada, apendice cromático apreciavel.

O nucleo é tambem esferico, apresenta a cromatina menos condensada, sendo, ás vezes, possivel observar os elementos constitutivos della separados em diversos cromozomios. Finalmente, nesta fórma o plasma apresenta largura sensivelmente maior que na fórma anterior.

Observámos ainda, no sangue de nossa doente, um outro aspeto de tripanozómida no qual o blefaroplasto, ao contrario do que acontece no aspeto normal, acha-se muito dis-

Da die Trypanosomiden, je nach der Art des geimpften Säugetieres, einige Formverschiedenheiten zeigen, halte ich es für angebracht, die Morphologie des Parasiten in den drei Hauptwirten Mensch, *Callithrix* und Meerschweinchen zu studieren und hierauf die verschiedenen Entwicklungsphasen im Meerschweinchen und Pinseläffchen zu beschreiben, da diese Tiere hauptsächlich zu meinen Versuchen dienten.

Das Schizotrypanum cruzi im peripherischen Blute des Menschen.

Die Untersuchung des Parasiten im Blute unserer ersten Kranken wurden mit getrockneten, fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten gemacht, was eine gewisse Mangelhaftigkeit der erhaltenen morphologischen Befunde erklärt. Allerdings kannte ich die Morphologie des menschlichen Parasiten genau, da ich sie an den geimpften Aeffchen studiert hatte, wobei feuchte Fixation und Färbung mit Eisenhämatoxylin (Methode von ROSENBUSCH) zur Anwendung kam, was die Richtigkeit unserer Beschreibung garantiert. Im menschlichen Blute beobachtete ich zwei deutlich verschiedene Formen des Trypanosomiden.

Eine der Formen zeigt einen grossen, eiförmigen Blepharoplasten, welcher sehr nahe oder ganz am Hinterende des Parasiten liegt und seinen grössten Durchmesser in transversaler Richtung hat. In Folge der trockenen Fixation bilden sich in der Regel seitliche Hervorragungen des Blepharoplasten, der als transversaler Chromatinbalken erscheint, bei welchen die beiden Enden nicht vom Plasma eingefasst sind. Bei dieser Form beobachtet man häufig ein zweites Chromatinelement, das als innig verbundenes Anhängsel des Blepharoplasten erscheint und der Centralspindel und dem Basalkorn entspricht, was in feucht fixiertem Präparate sehr deutlich wird. Der Hauptkern hat gewöhnlich eine ovale Form oder erscheint als langes, in Längsrichtung gelagertes Chromatinband; die letzte Form scheint eine frühere Phase in der Entwicklung des Kernes anzudeuten. Man erkennt häufig im Innern des Nucleus ein stärker ge-

tante da extremidade posterior do organismo. Nesta forma o nucleo apresenta-se sempre como longa faixa longitudinal. Acreditamos tratar-se aqui de formas de evolução, nas quais a emigração do blefaroplasto para a extremidade do parasito vae-se realizando. Identico aspeto observámos algumas vezes em cobaias, inoculadas com parasitos vindos dos conorrinos.

Não raro é observar-se no sangue humano formas do tripanozómida incluídas nas hemátias, sendo demonstrativo deste fato a figura 28 da Est. 10.

Morfolojia do *Schizotrypanum cruzi*, de origem humana, no sangue do *Callithrix penicillata*.

A inoculação do sangue de nossa doente BERENICE em *Callithrix penicillata* forneceu-nos intensa infeção, com abundancia do parasito no sangue periferico, de modo a termos podido estudar minuciosamente a morfolojia do tripanozómida.

Uzámos, como processo de tecnica, além da coloração pelo metodo de GIEMSA, o recente processo de ROSENBUSCH, do qual tivemos conhecimento pelo Dr. MAX HARTMANN. Consta do seguinte o metodo de coloração de ROSENBUSCH: Fixação a humido, pelo sublimado-alcool, segundo SCHAUDINN, durante vinte minutos ou meia hora; passagem dos *frottis* pelos alcooles a 70° e 95°, permanecendo de 10 a 15 minutos em cada; lavagem com agua distilada e permanencia de duas horas em solução a 3,5 % de alumen ferrico; nova lavagem em agua distilada e coloração, durante 5 minutos, em solução a 1 % de hematoxilina em alcool a 96 %, adicionada de algumas gotas de solução concentrada de carbonato de litio; lavagem dos preparados em agua corrente e diferenciação em solução aquosa a 2,5 % de alumen ferrico; dezhidratação e montagem no balsamo. A mistura córante deve apresentar a côr de vinho tinto, sendo necessario que a solução alcoolica de hematoxilina tenha sido preparada com antecedencia nunca menor de 4 semanas. A parte mais delicada do

färbtes Chromatinkörperchen, welches dem Caryosom entspricht.

Die undulierende Membran zeigt eine wechselnde Anzahl von Ausbuchtungen, die natürlich von den Bewegungszuständen abhängen, in welchen der Parasit fixiert wurde. Die Geissel, welche, so weit man sehen kann, vom Blepharoplast selbst oder dem erwähnten Chromatinelement, welche sich an diesen anschliesst, entspringt, verläuft quer von einem zum anderen Ende des Organismus, gewöhnlich sehr nahe oder direkt im Niveau des Kernes und zeigt einen freien Teil, von wechselnder Länge, aber immer kürzer, als in der andern Form, die ich noch näher beschreiben werde. Das Vorderende des Parasiten ist zugespitzt, indem die freie Geissel bis zu einer gewissen Höhe von einem dünnen Protoplasmafortsatz begleitet ist.

Die zweite im menschlichen Blute beobachtete Form unterscheidet sich von der vorigen besonders durch Grösse und Aussehen des Blepharoplasten und des Kernes.

Hier ist der Blepharoplast mehr oder weniger rund, am Hinterende des Organismus liegend und bedeutend kleiner als bei der vorigen Form; auch zeigt er in der Regel bei der angewandten Technik kein deutliches Chromatinhängsel. Auch der Nucleus ist rund und das Chromatin erscheint weniger verdichtet, so dass man manchmal seine Zusammensetzung aus verschiedenen Chromatinkörnern unterscheiden kann. Endlich zeigt bei dieser Form das Plasma eine deutlich grössere Breite, wie in der vorigen.

Ich habe ausserdem im Blute unserer Patientin noch eine Form des Trypanosoma beobachtet, in welcher der Blepharoplast im Gegensatz zum gewöhnlichen Befunde sich sehr weit vom Hinterende des Organismus befindet; dabei zeigt sich der Kern immer als ein langes und längsgerichtetes Chromatinband. Ich halte dies für eine Entwicklungsform, in welcher die Wanderung des Blepharoplasten nach dem Hinterende des Parasiten sich eben vollzieht; einen ähnlichen Anblick beobachtete ich einigemal bei Meerschweinchen, welche mit von *Conorhinus* stammenden Parasiten geimpft waren.

processo é a diferenciação; desta depende, essencialmente, o sucesso dos preparados. Por outro lado, cumpre observar que alguns protozoários resistem mais á diferenciação pelo alumen, quando outros deixam escapar mais depressa a materia córante; pelo que, o gráu de diluição da substancia diferenciadora deverá variar e será conhecido para caso especial, de acordo com ensaios realizados.

Obtivemos com este metodo de pesquisas, os melhores resultados nas diversas fazes da evolução, tendo chegado ao conhecimento das mais finas estruturas do tripanozómida, não apreciáveis pelos outros metodos.

No *Callithrix* pelo metodo de GIEMSA, o *Schizotrypanum cruzi* apresenta os aspetos morfolojicos descritos no sangue do doente, sendo de notar, porém, que nas fórmulas de grande blefaroplasto este se apresenta ainda maior que no sangue humano. Interessantes foram os resultados fornecidos pelo processo de ROSENBUSCH: Bem evidente é aqui o dimorfismo do tripanozómida e, em vista do processo de fixação uzado, devemos considerar os aspetos morfolojicos verificados como absolutamente verdadeiros e não determinados por accidentes de tecnica.

Uma das fórmulas do tripanozómida mostra grande blefaroplasto, quazi sempre ovoide, situado proximo da extremidade posterior do organismo; neste blefaroplasto distingue-se grande corpusculo central, esferico ou ovoide, intensamente córado, e zona externa clara, limitada por membrana delgada, de contorno, ás vezes, regular. E' a zona de suco nuclear do nucleo-blefaroplasto, como acaba de demonstrar ROSENBUSCH para diversos tripanozómos. Nos exemplares cuja fixação e coloração tenham sido bem sucedidas, observa-se, partindo do blefaroplasto, quazi sempre em ligação com o cariozoma deste, cone fibrilar de aspeto difuzo, na extremidade do qual ha pequeno corpusculo intensamente córado. Esta ultima estrutura é o fuço central e o corpusculo da extremidade, ponto de emergencia do flajelo, é o corpusculo bazal. Esse aspeto corresponde ás observações de ROSENBUSCH; aqui, porém, com muito maior nitidez.

Nicht selten beobachtet man im menschlichen Blute auch Trypanosomenformen, die in den Blutkörperchen eingeschlossen sind, wie die Figur 28, Taf. 10 zeigt.

Morphologie des von Menschen stammenden *Schizotrypanum cruzi* in der *Callithrix penicillata*.

Die Ueberimpfung des Blutes unserer Patientin BERENICE auf eine *Callithrix penicillata* ergab eine intensive Infektion mit zahlreichen Parasiten im peripherischen Blute, so dass ich die Morphologie des *Schizotrypanum* genau studieren konnte.

Von technischen Verfahren benützte ich neben der Methode von GIEMSA auch die neue von ROSENBUSCH, deren Kenntnis ich den Vorlesungen von Dr. MAX HARTMANN verdanke. Dieselbe besteht in Folgendem: feuchte Fixierung durch Sublimalkohol nach SCHAUDINN während 20 bis 30 Minuten, Durchführen der Ausstriche durch Alkoholgemische von 70 bis 95 Grad (bei einem Aufenthalte von 10 bis 15 Minuten in jedem derselben) und zurück; Abspülen im destillierten Wasser und zweistündigem Verweilen in einer 3,5 % Eisenalaunlösung; abermaligem Abspülen in aqua destillata und Einlegen während eines Zeitraums von 5 Minuten in eine 1 % Lösung von Hämatoxylin in 96 % Alkohol, welcher einige Tropfen einer konzentrierten Lithiumkarbonatlösung zugesetzt werden. Hierauf werden die Ausstrichpräparate in fließendem Wasser gewaschen und in einer 2,5 % wässerigen Eisenalaunlösung differenziert; dann wird das Präparat deshydratiert und in Balsam eingeschlossen. Die Farbelösung soll eine Rotweinfarbe zeigen und die Hämatoxylinlösung wenigstens vier Wochen früher hergestellt sein.

Der delikateste Teil des Verfahrens ist die Differenzierung und davon hängt hauptsächlich das gute Resultat ab. Jedoch muss bemerkt werden, dass einige Protozoen der Differenzierung durch Alaun länger widerstehen, während andere den Farbstoff schneller abgeben; deswegen muss der Verdünnungsgrad der differenzierenden Substanz wechseln und sich in jedem Falle nach zuvorgemachten Ver-

O nucleo principal nesta fôrma é ovoide, com membrana muito regular, bastante espessa, e com grande cariozoma esferico no centro. A zona de suco nuclear é quazi sempre clara, inteiramente sem cromatina, ou apresenta raras e finas trabeculas desta substancia.

A membrana ondulante, cuja largura é igual a pouco mais do terço da largura do plasma, apresenta pequeno numero de ondulações e não deixa, por este processo, perceber estrutura especial. O flajelo parte, em alguns exemplares, do corpusculo bazal, situado no apice do cone fibrilar; ás vezes, porém, não é perceptivel o fuзо central nem o corpusculo bazal, emergindo, então, o flajelo diretamente da membrana do nucleo-blefaroplasto. Pode-se supor que, em tais cazos, o fuзо central desaparece e que o corpusculo bazal se torne invizivel em consequencia de enrugamento. O plasma apresenta, ás vezes, estrutura alveolar bem nitida; em alguns exemplares, porém, mostra estrutura mal caracterizada, de aspeto difuzo, ou mais ou menos reticular. As extremidades do parasito são afiladas, ponteagudas.

A outra forma distingue-se da precedente pelo tamanho muito menor do blefaroplasto e pelo aspeto do nucleo. Aqui, o nucleo-blefaroplasto, ora esferico, ora ovoide, apresenta ainda um corpusculo central (cariozoma), menor que o da forma precedente, cercado de zona clara, em cuja periferia existe circulo de substancia cromatica, com o aspeto de membrana. Partindo do cariozoma do blefaroplasto, é geralmente vizivel o fuзо central, com o corpusculo bazal na extremidade.

O nucleo é esferico, com cariozoma central menor que na forma precedente; zona de suco nuclear clara, sem substancia cromatica e membrana espessa. E' frequente nesta forma observar-se condição nuclear curioza, similar á verificada por JOLLOS nos coccidios e por ZÜLZER nos heliozoarios. Os nucleos (Est. 13, fig. 1, 5, 6 e 7) apresentam-se muitas vezes em estado de mitoze sem que seja observado qualquer outro estágio de divizão nos outros pontos do organismo celular. E' mitoze precoce do nucleo, precedendo a esquizogonia do parasito, fenomeno atualmente conhecido em cito-

suchen richten. Mit dieser Untersuchungsmethode erhielt ich bei verschiedenen Entwicklungsstadien die besten Resultate und erkannte die feinsten Strukturen des *Schizotrypanum*, welche bei den anderen Methoden nicht zu beobachten waren.

Nach der Methode von GIEMSA zeigt das *Schizotrypanum cruzi* die im Blute der Patientin geschilderten Formen auch bei der *Callithrix*; doch ist zu bemerken, dass bei den Formen mit grossen Blepharoplasten dieser noch grösser erscheint, als im menschlichen Blute. Sehr interessant waren die Ergebnisse der Methode von ROSENBUSCH: hier zeigt sich der Dimorphismus des Trypanosomiden sehr deutlich und im Hinblick auf die angewandte Fixierungsart kann man die beobachteten morphologischen Bilder als natürliche und nicht durch technische Zufälligkeiten verursachte ansehen.

Eine der Trypanosomenformen zeigt einen grossen, fast immer eiförmigen Blepharoplasten am Hinterende des Organismus, in welchem man einen grossen runden oder eiförmigen Centralkörper erkennt, welcher intensiv gefärbt ist; ferner eine äussere helle Zone, welche durch eine dünne Membran mit nicht selten ganz regelmässigem Umriss begrenzt wird. Es ist dies die Kernsaftzone des Blepharoplastkernes, wie dies ROSENBUSCH neuerdings für verschiedene Trypanosomen gezeigt hat.

An solchen Exemplaren, bei welchen Fixation und Färbung gut gelungen sind, beobachtet man vom Blepharoplasten ausgehend und fast immer in Verbindung mit dem Caryosom desselben, einen faserigen Kegel von diffusem Aussehen, der an seinem Ende ein stark gefärbtes Körperchen trägt. Dieses Strukturelement ist eine Centralspindel und das endständige Körperchen, von den die Geissel entspringt, ist das Basalkörperchen. Auch dies entspricht den Befunden von ROSENBUSCH, ist in unsern Falle aber noch deutlicher.

Bei dieser Form ist der Hauptkern eiförmig, mit regelmässiger dickerer Membran und einem grossen runden Caryosom im Zentrum. Die Kernsaftzone ist fast immer hell, ganz ohne Chromatin oder schliesst nur wenige und feine Bälkchen dieser Substanz ein. Die undulierende Membran, deren Breite etwas mehr als

lojia de protozoarios. Diversos dos nossos dezenhos registam este fato e num delles (Est. 13, fig. 1) observa-se, bem nitida a divizão do centriolo com formação do fuzo central (*Centralspindel*); as duas metades do nucleo são deziguais, o que não indica, como poderia parecer á primeira vista, divizão heteropolar, mas deve antes significar dezigualdade na evolução das duas partes do nucleo, como é de regra observar, segundo JOLLOS, no coccidio «*Adelea ovata*». Permanece, nesta figura, ainda intata a membrana nuclear, apesar de quazi completa a divizão das substancias do interior.

E' digno de salientar, na citolojia deste tripanozómida, a estrutura do blefaroplasto. Este se apresenta com todas as partes e com a organização identica á do nucleo, com cariozoma, zona do suco nuclear, correspondendo ao halo claro que circumda este e membrana nuclear, de contorno nem sempre muito nitido. O modo de encarar o assunto pela escola de SCHAUDINN, por V. PROWAZEK, HARTMANN, etc., que consideram o blefaroplasto como segundo nucleo, o nucleo locomotor dos tripanozomidas, tem aqui solido apoio.

Morfolojia e ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* no organismo da cobaia.

Foi no organismo da cobaia que estudámos, principalmente, o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, sendo nossa descrição baseada em grande numero de experiencias com aquelle animal. Das fazes principais do ciclo evolutivo, principalmente daquellas que constituem, na evolução deste tripanozómida, fenomeno não conhecido nas outras especies, procurámos e obtivemos confirmação no organismo do *Callithrix penicillata*, do cão e de outros animais sensiveis.

No sangue periferico das cobaias inoculadas e sistematicamente estudadas o *Schizotrypanum cruzi* tem primeira faze de evolução no interior das hemátias e outra livre no plasma, conforme acima dissemos. Já nas formas intraglobulares a dualidade morfolojica é bem acentuada, apresentando-se uma das

umem Drittel der Breite des Plasmakörpers gleich kommt, zeigt eine geringe Zahl von Ausbuchtungen und lässt bei diesem Verfahren keine besondere Struktur erkennen. Die Geissel entspringt bei einigen Exemplaren von dem Basalkörperchen, das am Ende des Faserkegels liegt; manchmal ist jedoch weder die Centralspindel, noch das Basalkörperchen sichtbar und es entspringt dann die Geissel direkt der äusseren Membran des Blepharoplastkernes. Man kann annehmen, dass dann die Centralspindel rückgebildet und das Basalkorn infolge Schrumpfung unsichtbar geworden ist.

Das Plasma zeigt bei einigen Exemplaren eine sehr deutliche alveoläre Struktur, bei anderen jedoch einen undeutlichen diffusen, mehr oder weniger netzartigen Bau. Die Enden der Parasiten sind verschmälert und zugespitzt.

Die andere Form unterscheidet sich von der vorigen durch die viel geringere Grösse des Blepharoplasten und das Aussehen des Kernes. Hier zeigt der bald runde, bald eiförmige Blepharoplastkern ein kleineres Caryosom als in der vorigen Form, welches ebenfalls von einer helleren Zone umgeben ist, die in ihrer Peripherie einen Kreis von chromatischer Substanz in der Form einer Membran enthält. Vom Blepharoplastcaryosom entspringend, sieht man gewöhnlich die Centralspindel mit dem Basalkörperchen an einem Ende.

Der Kern ist rund, mit einem kleineren zentralen Caryosoma als in der vorigen Form, einer hellen Kernsaftzone ohne chromatische Substanz und dicker Membran. Bei dieser Form beobachtet man häufig einen sonderbaren Zustand des Kernes. Aehnliches wurde (nach mündlichen Mitteilungen von Dr. HARTMANN) von JOLLOS bei *Coccidien* und von ZÜLZER bei *Heliozoen* beobachtet (Fig. 1, 5, 6 u. 7, Taf. 13).

Die Kerne zeigen sich oft im Zustande der Mitose, ohne dass man an den anderen Teilen des Zellorganismus Teilungen erblicken könnte. Es handelt sich um eine frühzeitige Mitose des Kernes, welche einer Schizogonie des Parasiten vorangeht, eine heutzutage in der Cytologie der Protozoen bekannte Er-

formas, nos preparados tratados pelo GIEMSA, com grande blefaroplasto colocado na extremidade posterior e com nucleo muito longo, longitudinalmente disposto (Est. 10, fig. 11 e 12). A outra forma caracteriza-se pelo blefaroplasto menor, pelo aspeto do nucleo que, ao em vez de ser longo e estar longitudinalmente disposto, apresenta-se ovoide, com a cromatina menos condensada, e, finalmente pela largura maior do plasma. Numa e noutra fórma o blefaroplasto, que, nos organismos completamente desenvolvidos se acha quazi na extremidade posterior, póde ser visto afastado desta, mais para as proximidades do nucleo.

Em algumas fórmas intra-globulares não existem ainda o flajelo e a membrana ondulante, tambem auzentes, ás vezes, das formas prezas ás hemátias pelo blefaroplasto (Est. 10, fig. 17 e 18). Nestas ultimas, muito frequentes conforme dissemos, não é raro ver-se o nucleo localizado em porção dilatada do parasito, que se apresenta com aspeto piriforme (Est. 10, fig. 16 e 17). E' frequente nas hemátias a que se acham prezos tripanozomidas ver-se a impressão deixada no globulo pelo parasito, parecendo nem sempre haver destruição do globulo vermelho parasitado. Não vimos, jamais, qualquer aspeto de pigmentação das hemátias em que se achavam tripanozomidas incluídos.

Abundantes no inicio da infeção, as fórmas intra-globulares do parasito são vistas em qualquer periodo, em maior ou menor quantidade, o que não admira, visto serem ellas faze necessaria na evolução deste flagelado.

Os tripanozomidas livres no plasma apresentam morfologia semelhante á das fórmas intra-globulares. E minuciosamente tratámos dessa morfologia, quando descrevemos o parasito do sangue do sagui inoculado com sangue humano, pelo que, quazi nada nos resta dizer.

A dualidade de fórma continúa evidente. E, admitindo diferenciação sexuada relativa á diversidade morfolojica, deveremos considerar femea a fórma com blefaroplasto menor, quazi sempre esferico, com nucleo ovoide de cromatina frouxa, nas colorações pelo GIEMSA,

scheinung. Verschiedene unserer Zeichnungen geben diesen Vorgang wieder und auf einer derselben (Fig. 1, Taf. 13) sieht man deutlich die Teilung des Centriols mit Bildung der Centralspindel (Centrodese); die beiden Hälften des Nucleus sind ungleich, was nicht, wie es auf den ersten Blick scheinen könnte, eine heteropolare Teilung beweist, sondern, wie das nach JOLLOS auch bei der Coccidie *Adelea ovata* in der Regel der Fall ist, eher eine Ungleichheit in der Entwicklung der beiden Teile des Kernes andeutet. Es bleibt in dieser Figur die Kernmembran noch unverändert, obgleich die Substanzen im Innern schon fast vollständig geteilt sind.

Bei der Cytologie dieses Trypanosomas verdient die Struktur des Blepharoplasten hervorgehoben zu werden. Derselbe zeigt sich in allen seinen Teilen und in seiner Organisation als identisch mit dem Nucleus, indem er ein Caryosom, eine Kernsaftzone (der das erstere umgebende, helle Hof) und eine Kernmembran mit — nicht immer sehr deutlichem — Umrisse besitzt. Hier findet die Anschauungsweise der SCHAUDINN'schen Schule (PROWAZEK, HARTMANN, u. s. w.), welche den Blepharoplasten als zweiten, lokomotorischen Kern der *Trypanosomen* ansieht, eine feste Stütze.

Morphologie und Entwicklungskreislauf des *Schizotrypanum cruzi* im Organismus der Meerschweinchen.

Den Entwicklungskreis des *Schizotrypanum cruzi* habe ich ganz besonders am Meerschweinchen studiert und meine Beschreibung beruht auf einer grossen Anzahl an diesen Tieren gemachter Versuche. Von den hauptsächlichsten Entwicklungsphasen dieses Trypanosomas, besonders denjenigen, welche noch unbekannte Vorgänge darstellen, suchte und fand ich die Bestätigung im Organismus der *Callithrix penicillata*, des Hundes und der anderen empfänglichen Tiere.

Im peripherischen Blute der geimpften und systematisch studierten Meerschweinchen hat das *Schizotrypanum cruzi* eine erste Entwicklungsphase im Innern der Blutkörperchen und eine zweite frei im Plasma, wie ich oben aus-

plasma mais largo. A outra fôrma, de maior blefaroplasto, nucleo comprido e ovoide, plasma mais estreito, será, então, a fôrma macha.

Não temos idéa formada, por enquanto, respeito á relação numerica entre essas duas fôrmas no correr da infeção; certo é, porém, que em dados momentos ha predominancia evidente de uma sobre a outra.

Nas primeiras fazes de infeção observa-se no sangue periferico grande diversidade nas dimensões das fôrmas de flajelados; encontram-se organismos, intra-globulares ou livres no plasma, muito estreitos e de pequeno comprimento, com nucleo longo, em faixa, ou arredondado, indicando assim, desde este estágio joven, a dualidade morfologica (Est 10, fig. 22, 23 e 24). Nos preparados, segundo ROSENBUSCH, encontrámos minucias de estrutura que merecem especial referencia. Os flajelados do plasma apresentam blefaroplasto com a estrutura nuclear já descrita a proposito do tripanozomida humano no sangue; identica, tambem, é a estrutura do nucleo, havendo ainda figuras muito tipicas de mitoze precoce. O aspeto do plasma, da membrana ondulante e do flajelo é identico aos descritos para o tripanozomida, no macaco. O que observámos aqui de interessante foi a presença frequente de estrutura fibrilar especial, constituida de unica fibrila espessa (Centrosmoze), ligando o nucleo ao blefaroplasto (Est. 13, fig. 5, 6 e 8). Parece tratar-se do fuзо central da divizão heteropolar, o qual teria permanecido, apoz as formações do blefaroplasto.

Esquizogonia do *Schizotrypanum cruzi* no pulmão de vertebrado.

As mais minuciozas pesquisas nunca nos permitiram verificar qualquer aspeto que pudesse ser considerado como divizão longitudinal do *Schizotrypanum cruzi* no sangue periferico, ou nos órgãos profundos. Este fato, de si, indicava a existencia de outro processo de multiplicação, que pesquisámos e verificámos amplamente, constando elle de esquizogonia do flajelado no pulmão dos animais infetados. Não temos ainda deter-

einandergesetzt habe. Schon bei den intraglobulären Formen ist die morphologische Dualität gut gekennzeichnet, indem eine der Formen in Präparaten, die nach GIEMSA gemacht sind, einen grossen, am Hinterende liegenden, Blepharoplasten und einen sehr langen, längsgerichteten Kern zeigt (Fig. 11, 12, Taf. 10). Die andere Form charakterisiert sich durch kleineren Blepharoplasten und die Form des Kernes, welcher, statt lang und längsgerichtet, eiförmig und mit weniger dichtem Chromatin versehen erscheint, endlich durch die grössere Breite des Plasmakörpers. In beiden Formen kann der Blepharoplast, der in ganz entwickelten Organismen sich beinahe am Hinterende findet, von diesem entfernt und mehr in der Nähe des Kernes gesehen werden.

Bei einigen der intraglobulären Formen fehlt die Geissel und die undulierende Membran, welche auch zuweilen bei den Formen, die mittelst des Blepharoplasten an den Blutkörperchen haften, vermisst werden (Fig. 17 und 18, Taf. 10). Bei letzteren, die, wie gesagt, sehr häufig sind, sieht man öfters den Kern in einer erweiterten Portion der birnförmig erscheinenden Parasiten liegen (Fig. 16 und 17, Taf. 10). Nicht selten erkennt man in den Blutkörperchen, denen Trypanosomiden anhaften, den vom Parasiten zurückgelassenen Eindruck, wobei dasselbe nicht immer zerstört zu werden scheint. Niemals habe ich bei den eingeschlossenen Trypanosomiden irgend eine Andeutung von Blutpigment gesehen.

Die zu Anfang der Infektion häufigen, intraglobulären Parasitenformen werden zu jeder Zeit in grösserer oder geringerer Menge beobachtet, was nicht verwundern kann, da sie eine notwendige Entwicklungsphase dieses Flagellaten darstellen; die im Plasma frei vorkommenden Trypanosomiden zeigen eine Morphologie, welche derjenigen der intraglobulären Formen ähnlich ist. Dieselbe ist eingehend behandelt worden, als ich den Parasiten der mit menschlichem Blut geimpften Pinsel-äffchen beschrieb, weshalb nichts mehr darüber gesagt zu werden braucht. Die Dualität der Formen bleibt auch weiterhin deutlich. Wenn man entsprechend der verschiedenen Morphologie einen Geschlechtsunterschied an-

minismo seguro para surpreender a fase de esquizogonia do parasito, com facilidade. E' que a virulencia do *Schizotrypanum cruzi* parece variar de acordo com diversos fatores, ainda não determinados, parecendo delles o mais importante a passagem atravez do organismo da mesma especie animal. Assim é que, em nossas experiencias, a inoculação de 1 centimetro cubico de sangue de cobaias infetadas por conorrinos, matava, quazi seguramente, os animais, em 5 dias, apresentando as cobaias grande abundancia de fórmulas esquizogonicas no pulmão e alguns flajelados no sangue periferico. Apoz algumas passagens em cobaias, porém, o tripanozómida não matava mais os animais naquelle espaço de tempo, vindo as cobaias a morrer apoz 1 ou 2 mezes, geralmente com intensa infeção e sendo encontradas, no pulmão, grande abundancia de fórmulas esquizogonicas. Por outro lado, em qualquer fase da molestia encontram-se poucas fórmulas de multiplicação, sendo as vezes difficil verificar, nestas condições, a esquizogonia.

De multiplas experiencias concluimos ser o melhor processo, para obter abundancia de fórmulas esquizogonicas, a inoculação intraperitoneal de 1 a 2 centimetros cubicos de sangue de cobaia infetada por conorrinos, sacrificando-se os animais, quando não morreram, do 5.º ao 6.º dia depois da inoculação.

A abundancia de fórmulas de esquizogonia no momento da morte dos animais com infeção demorada (cronica) e o menor numero dellas em outras fazes da molestia, nos animais sacrificados, faz-nos acreditar em multiplicações periodicas do parasito, que seriam verdadeiras recrudescencias da molestia; tanto mais quanto, no sangue periferico, a quantidade de flajelados apresenta oscilações, cujas normas não nos foi possivel ainda determinar.

No pulmão, a esquizogonia, como a do parasito da malaria, realiza-se nos capilares, multiplicando-se o tripanozómida do seguinte modo: Os parasitos perdem o flajelo e a membrana ondulante, deslocando-se o nucleo de sua posição normal para o lado da extremidade anterior; esta extremidade, por movimento de flexão do organismo, aproxima-se

nimmt, müssen wir die Formen mit kleinerem, gewöhnlich rundem Blepharoplasten, mit eiförmigem, lockeres Chromatin enthaltendem Kerne und breiterem Plasmakörper (bei GIEMSA-färbung) als weibliche ansehen. Die andere Form mit grösserem Blepharoplasten, eiförmigem oder langgestrecktem Kerne und schmalerem Plasmakörper, wäre dann die männliche.

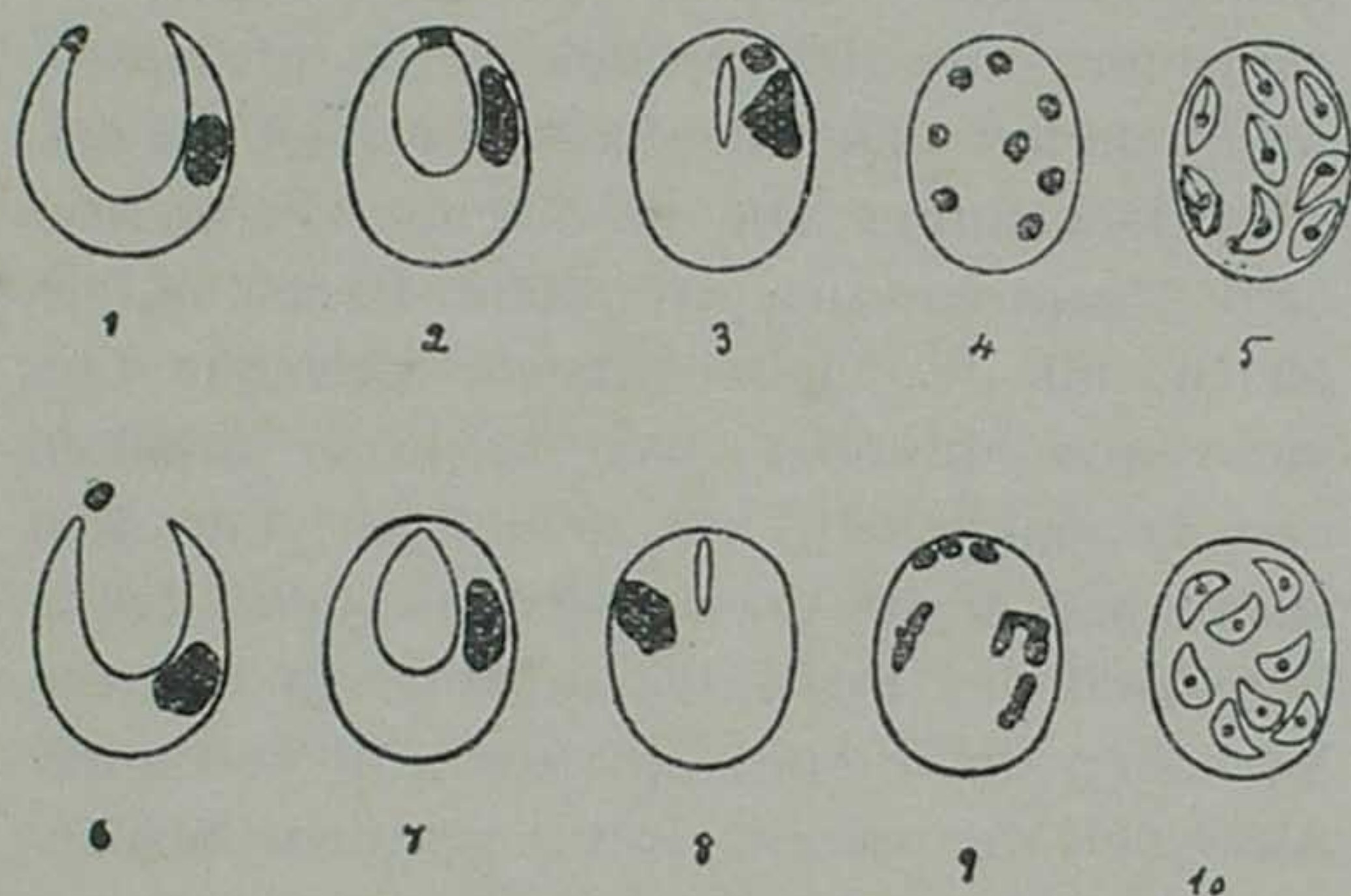
Ich habe zur Zeit noch kein sicheres Urteil über das Zahlenverhältnis, welches zwischen beiden Formen in Verlauf der Infektion besteht; jedoch steht soviel fest, das zu gewissen Zeiten die eine über die andere in auffallender Weise vorwiegt.

In den ersten Infektionsphasen beobachtet man im peripherischen Blute eine grosse Verschiedenheit in den Dimensionen der Flagellatenformen; man findet intraglobuläre und frei im Plasma vorkommende Organismen, die sehr schmal und kurz sind und einen breiten Kern haben, der bandförmig oder rund ist und die auf diese Weise schon im Jugendzustande die morphologische Dualität verraten. (Fig. 22, 23 und 24, Taf. 10). In den Präparaten nach ROSENBUSCH fand ich Struktureinheiten, welche eine besondere Erwähnung verdienen. Die Flagellaten im Plasma zeigen einen Blepharoplasten mit der — schon bei dem, vom Menschen abstammenden, Trypanosomiden des Pinselläffchens beschriebenen — Struktur; auch der Bau des Kernes ist identisch, indem gleichfalls typische Bilder von frühzeitiger Mitose vorkommen. Plasma, undulierende Membran und Geissel gleichen vollständig den bei den Parasiten des Aeffchens beschriebenen Bildern. Besonders interessant war auch eine, häufig beobachtete, fibrilläre Struktur, welche aus einer einzigen dicken, Kern und Blepharoplast verbindenden, Fibrille (Centrodosome) besteht. (Fig. 5, 6, 8, Taf. 13). Es scheint sich um den Rest der Kernspindel der heteropolaren Teilung zu handeln, welche nach der Bildung des Blepharoplasten weiter besteht.

Schizogonie des *Schizotrypanum cruzi* in der Lunge der Wirbeltiere.

Die eingehendsten Beobachtungen gestatteten mir niemals, im peripherischen Blute

da posterior com ella se fundindo; torna-se, então, esferico ou arredondado o parasito, e, é possível ver ainda, em muitos exemplares, a fenda de separação entre as duas metades do organismo que se uniram lateralmente. O blefaroplasto tem, no fenomeno, duplo procedimento: Ora elle se separa do parasito, juntamente com o flajelo, antes que o tripanozómida se tenha tornado esferico, (Est. 10, fig. 31 a 36 e fig. do texto de 6 a 10) ora elle é conservado, funde-se com o nucleo e entra com elle em multiplicação. (Fig. do texto 1 a 5). Esta duplicidade de processo, em relação ao blefaroplasto, vem aliaz confirmada no aspecto das fórmas esquizogonicas completamente divididas. (Vide fig. 5 a 10 do texto).



Segue-se a divizão do nucleo; delle só, num dos casos; do nucleo e do blefaroplasto, no outro. O processo de divizão nuclear, os fenomenos celulares exatos deste momento do ciclo são ainda obscuros, porquanto não os estudámos, o que devemos fazer depois, com o emprego da fixação a humido e no estado vivo.

As fórmas segmentadas apresentam 8 pequenos organismos claviformes, dispostos irregularmente no interior do espaço limitado por delgada pelicula que será, de certo, o periplasto do parasito. Esta pelicula, a um exame superficial, poderia impropriamente, fazer considerar as fórmas descritas como quistos, impressão fornecida, ainda, nos preparados fixados apoz dessecação, por orla clara, de duplo contorno, que cerca o parasito nesta faze e que deverá ser explicada pela coagulação de substancias aderentes á

oder in den inneren Organen irgend ein Bild aufzufinden, welches als eine Längsteilung des Schizotrypanum angesehen werden könnte. Dies allein genügt, um die Existenz eines anderen Vermehrungsprozesses nahe zu legen; ich suchte einen solchen und fand ihn sehr reichlich: er besteht in einer Schizogonie des Trypanosomas in der Lunge der infizierten Tiere. Es fehlt noch an einem sicheren Anhaltspunkte, um die Schizogoniephase des Parasiten mit Leichtigkeit auffinden zu können. Der Grund liegt darin, dass die Virulenz des *Schizotrypanum cruzi* unter dem Einfluss verschiedener noch unbekannter Faktoren wechseln kann, wobei als der wichtigste die Passage durch den Organismus derselben Tierart erscheint. So tötete in unseren Versuchen die Einspritzung eines ccm. Blutes von Meerschweinchen, welche durch *Conorhinus* infiziert waren, die Tiere fast sicher in 5 Tagen, wobei die Meerschweinchen eine grosse Menge von Schizogonieförmern in der Lunge und einige Flagellaten im peripherischen Blute zeigten. Nach einigen Meerschweinchenpassagen tötete aber das *Schizotrypanum* die Tiere nicht mehr in dieser Zeit, indem die Meerschweinchen ein bis zwei Monate später starben, gewöhnlich mit intensiver Infektion, wobei man in der Lunge eine grosse Menge von Schizogonieförmern fand. Auf der anderen Seite finden sich in einer beliebigen Krankheitsphase nur wenige Vermehrungsformen, sodass es unter solchen Bedingungen schwer hält, die Schizogonie zu beobachten.

Aus zahlreichen Versuchen schliesse ich, dass die beste Methode, reichliche Schizogonieförmern zu erhalten, in der Intraperitonealeinspritzung von 1 bis 2 ccm. Blut von Meerschweinchen, die durch *Conorhinus* infiziert wurden, besteht, wobei man die Tiere, wenn sie nicht sterben, am 5. oder 6. Tage nach der Einspritzung tötet.

Der Reichtum an Schizogonieförmern bei Tieren mit chronischer Infektion im Momente des Todes und die geringere Zahl desselben bei — in anderen Phasen der Krankheit — getötenen — Tieren lässt mich an eine periodische Vermehrung des Parasiten glauben, wodurch eigentliche Rückfälle der Krankheit zu Stande

superfície da célula. Aliás, aspeto idêntico é observado nas amebas em repouzo, especialmente nas culturas em agar, quer no estado vivo, quer no material fixado.

Apresentam-se com dois aspetos, em relação á estrutura dos merozoitos, as fórmulas segmentadas do parasito, bem estudadas nos preparados fixados pelo método de SCHAUDINN e corados pelo de ROSENBUSCH. Verificámos, assim, duas estruturas bem distintas: óra, os merozoitos se apresentam com núcleo esférico, tendo pequeno cariozoma central e zona de suco nuclear distinta limitada por delgada membrana, (Est. 13, Fig. 26) não sendo encontrado nestes o blefaroplasto; óra se apresentam com núcleo, possuindo maior quantidade de cromatina, tendo cariozoma maior que o das fórmulas anteriores, esférico e único, ou disposto em 2 lóbulos; nestes vê-se quasi sempre o blefaroplasto, colocado na extremidade delgada do parasito e ligado ao núcleo por filamento cromático (Est. 13, Fig. 25, 27 e 28) ou situado muito próximo do núcleo, delles apenas diferenciado. Na mesma fórmula segmentada encontram-se, ás vezes, diversos estádios dos merozoitos em relação á posição do blefaroplasto, conforme é fácil verificar á fig. 27, Est. 13. Os merozoitos da primeira estrutura, que consideramos como fórmulas fêmeas, são também menores que os outros, que acreditamos ser os elementos machos. É bem de crer que as fórmulas segmentadas, cujas unidades se apresentam já com o blefaroplasto, individualizado, correspondam aos tripanozómidas que conservaram o blefaroplasto, e as outras sejam a esquizogonia dos flagelados cujo blefaroplasto fôra expellido com o flagelo, no momento de se tornarem esféricos, no pulmão. Nos preparados corados pelo GIEMSA é possível verificar alguns pontos da estrutura descrita, especialmente a presença ou ausência do blefaroplasto. (Est. 11, Fig. 42, 43, 44 e 46). Alí, porém, o núcleo se apresenta sem estrutura apreciável, como massa de cromatina compacta, geralmente disposta em 2 lóbulos. (Est. 11, Fig. 45).

Os merozoitos, parece, escapam individualmente do espaço limitado pela película envolvente; não ha aqui, como para o caso do

kommen, um so mehr, als im peripherischen Blute die Zahl der Flagellaten Schwankungen zeigt, deren Gesetz ich noch nicht feststellen konnte.

In der Lunge vollzieht sich die Schizogonie, wie bei Malaria-Parasiten, in den Kapillaren, indem das Trypanosoma sich auf folgende Weise vermehrt: die Parasiten verlieren Geißel und undulierende Membran, während der Kern sich aus seiner normalen Stellung nach dem Vorderende zu disloziert; dieses Ende nähert sich durch eine Biegung des Organismus dem Hinterende und verschmilzt mit demselben; der Parasit wird so rundlich oder kugelförmig und man kann bei manchen Exemplaren noch die Trennungsspalte zwischen den beiden Hälften der Organismen, die sich seitlich vereinigt haben, wahrnehmen. Der Blepharoplast zeigt bei dieser Erscheinung ein zweifaches Verhalten: bald trennt er sich von dem Parasiten, zugleich mit der Geißel, bevor sich das Trypanosoma abrundet; bald bleibt er erhalten und vereinigt sich mit dem Kern, mit dem zusammen er die Vermehrung eingeht. Diese Duplizität des Prozesses in Hinsicht auf das Verhalten des Blepharoplastes wird durch das Aussehen der bereits völlig getheilten Schizogonieförmigen weiter bestätigt.

Es folgt hierauf die Teilung, in einem Falle des Kernes allein, im anderen des Kernes und Blepharoplasten. Der Prozess der Kernteilung und die genaueren Vorgänge in der Zelle während dieser Phase sind noch unklar, da ich sie nicht, wie ich später zu thun gedanke, unter Anwendung der feuchten Fixierung oder im lebenden Zustande studiert habe.

Die Teilungsformen zeigen 8 kleine, keulenförmige Teilungsprodukte, die unregelmäßig im Innern eines, von dünner Haut begrenzten, Raumes angeordnet sind; letzterer muss dem Periplast des Parasiten entsprechen und könnte bei oberflächlicher Untersuchung die beschriebenen Formen unrichtigerweise als Cysten auffassen lassen. Dieser Eindruck wird in den nach dem Trocknen fixierten Präparaten auch durch einen hellen Saum mit doppeltem Kontur, welcher den Parasiten in diesem Zustande umgiebt, hervorgerufen;

parazito da malária, rutura total da fôrma segmentada. E' o que se deduz de nossos desenhos onde são vistos organismos atravessando a pellicula, ainda intata, e outros já no exterior, aderentes á superficie externa.

São estes os pequenos organismos, resultantes da esquizogonia do tripanozômida no pulmão, que penetram nos glóbulos vermelhos e evoluem, chegando ao estágio de flajelados. As fôrmas jovens intra-globulares apresentam morfologia idêntica á descrita nos merozoitos do pulmão; vêem-se organismos com o blefaroplasto já individualizado (Est. 10, Fig. 1) e outros sem blefaroplasto (Est. 10, Fig. 2 e 3); este se acha misturado ao nucleo. A formação do blefaroplasto nas fôrmas intra-globulares da ultima categoria dá-se por divisão heteropolar do nucleo, conforme indica nosso desenho. Aí se vê o blefaroplasto, já diferenciado, ligado ainda ao nucleo pelo fuço central da divisão heteropolar. Devemos referir aqui a necessidade de preparados muito bem sucedidos para o estudo das fôrmas jovens intra-globulares, as quais, por outro lado, só se encontram, em grande abundancia, em certas fazes da infecção, especialmente na fase inicial.

Evolução do *Schizotrypanum cruzi* no organismo do inseto transmissor.

A maioria de nossas experiencias sobre a evolução do *Schizotrypanum cruzi*, no organismo do *Conorhinus*, tem sido realizadas em larvas novas do hemiptero, nascidas no laboratorio. Os insetos adultos e as ninfas, quando colhidos em residencias de individuos na condição morbida referida, apresentam, quazi em totalidade, flajelados no intestino médio e no reto, pelo que não constituem material de escolha para observações sistematicas sobre o ciclo exojeno do parazito.

Da condição infecioza de larvas, quando mantidas em suas sédes naturais, não temos conhecimento, por enquanto; aquellas, porém, nascidas no laboratorio, embóra de ovos postos por insetos que apresentam flajelados no intestino, não se mostram infetadas. E, para a verificação necessaria da hipoteze de que os

doch ist derselbe aus der Gerinnung der Zellenoberfläche anhängender Substanzen zu erklären. Uebrigens beobachtet man ein gleiches Bild bei den ruhenden Amöben, besonders in Agarkulturen, an lebendem sowohl, wie an fixiertem Material.

Die segmentierten Formen des Parasiten zeigen in Hinsicht auf die Struktur der Merozoiten eine doppelte Form, welche — in nach SCHAUDINN fixierten und nach ROSENBUSCH gefärbten Präparaten — gut studiert wurden. Auf diese Weise fand ich zwei deutlich verschiedene Strukturen: einmal zeigen die Merozoiten einen runden Kern, welcher ein kleines Caryosom und eine deutliche, von dünner Membran begränzte, Kernsaftzone aufweist (Taf. 13, Fig. 26), wobei kein Blepharoplast gefunden wird; im anderen Falle haben sie einen Kern mit grösserer Chromatinmenge und einen Caryosom, welches grösser als bei den vorigen Formen, einheitlich oder aus zwei Lappen gebildet ist; hier sieht man fast immer den Blepharoplasten am dünnen Ende des Parasiten liegend und mit dem Kerne durch ein Chromatinfilament verbunden (Tafel 13, Fig. 25, 27 und 28) oder auch nahe am Kerne gelegen und kaum von demselben differenziert. In derselben Teilungsform findet man zuweilen, in Hinsicht auf die Lage der Blepharoplasten, verschiedene Formen der Merozoiten, wie man leicht in der Fig. 27, Taf. 13 erkennen kann. Die Merozoiten der zuerst beschriebenen Struktur, welche wir als weibliche Form auffassen, sind ausserdem kleiner als die anderen, die wir für männliche Elemente halten. Es ist auch anzunehmen, dass die Teilungsformen, deren Teilstücke sich im Blepharoplasten schon individualisiert zeigen, denjenigen Trypanosomen entsprechen, welche den Blepharoplasten beibehalten haben, während die anderen die Schizogonie des Flagellaten darstellen, welche — bei der Abrundung in der Lunge — den Blepharoplasten mit der Geissel abgestossen haben. Bei, nach GIEMSA gefärbten, Präparaten kann man einige Einzelheiten der beschriebenen Strukturen erkennen, besonders die Gegenwart oder das Fehlen des Blepharoplasten (Taf. 11, Fig. 42, 43, 44 und 46). Doch zeigt sich hier der Kern ohne erkennbare Struktur, als

flajelados das larvas em experiencia fossem parasitos naturais dellas, transmitidos por herança e cultivados no sangue injerido, procedemos, em muitas de nossas pesquisas, de modo a izentar os resultados daquella cauza alegavel de erro. Assim é que dividiamos a coleção de larvas, nacidadas dos ovos de determinada postura, em duas partes, alimentando uma dellas em animal infetado e a outra em animais indenes. A auzencia, multiplas vezes verificada, de flajelados no tubo dijestivo das larvas nutridas em animais normais, com a presença simultanea de parasitos nas outras, elimina, de uma vez, a objeção possivel de infeção hereditaria do inséto e de cultura, nelle, de fórmias parazitarias preexistentes.

Algumas das fazes do ciclo evolutivo do flajelado foram verificadas em inséto adultos, nos quais, aliaz, repetimos muitas vezes as observações feitas nas larvas. Nas ninfas as pesquisas encontram maior dificuldade, porque nellas o sangue, na porção quilifica do intestino médio, sofre modificações rapidas, transformando-se desde o 3.^o ao 4.^o dia apoz a injestão, em massa extremamente compacta e dura, na qual a fixação e coloração do parasito tornam-se quazi impossiveis.

O tubo dijestivo das larvas de *Conorhinus*, de 15 a 20 horas, apoz a primeira injestão de sangue, apresenta, em relação ao conteúdo, duplo aspeto: Na porção quilifica do intestino médio, que se mostra dilatada ao extremo, ovoide, encontra-se sangue vermelho, em via de dijestão; na porção cilindrica, estreita, encontra-se liquido negro, granuloso, que representa o resultado da dijestão do sangue. Depois de 30 horas aparece no conteúdo liquido amarelado. A permanencia de sangue no intestino quilifico é longa, sendo elle aí encontrado até o 5.^o dia depois da injestão.

Nos inséto adultos, recentemente alimentados, o aspeto do tubo dijestivo é identico, com pequenas variantes, ao das larvas; naquelles, porém, deixados em jejum desde alguns dias, 8 pelo menos, a porção quilifica não apresenta sangue, contendo só um liquido incolor espumozo.

eine kompakte, gewöhnlich zweilappige Chromatinmasse (Taf. 11, Fig. 45).

Wie es scheint, schlüpfen die Merozoiten einzeln aus dem von der umgebenden Membran begrenzten Raume aus, indem es hier nicht, wie im Falle der Malariaparasiten, zu einem gänzlichen Zerfall der Teilungsform kommt. Dies kann man aus unseren Zeichnungen ersehen, wo man Organismen erkennt, welche die noch erhaltene Membran durchsetzen und andere schon freiliegende, welche der äusseren Fläche anhaften.

Diese kleinen aus der Schizogonie in der Lunge hervorgehenden Organismen sind es, welche in die roten Blutkörperchen eindringen und sich zur Phase von Flagellaten entwickeln. Die jungen endoglobulären Formen zeigen eine identische Morphologie, wie die beschriebenen Merozoiten der Lunge, indem man Organismen mit schon individualisierten Blepharoplasten sieht, wobei derselbe noch mit dem Kern vereinigt ist (Tafel 10, Fig. 1), neben anderen ohne solchen (Taf. 10, Fig. 2 und 3).

Die Bildung des Blepharoplasten in der letzten Art von intraglobulären Formen erfolgt durch heteropolare Kernteilung, wie unsere Zeichnung zeigt. Hier sieht man den Blepharoplasten schon differenziert, aber noch mit dem Kerne durch die Centralspindel der heteropolaren Teilung verbunden. Ich muss hier die Notwendigkeit gut gelungener Präparate für das Studium der jungen intraglobulären Formen betonen; letztere finden sich überdies nur in gewissen Phasen, besonders zu Beginn der Infektion, in grosser Menge.

Entwicklung des «*Schizotrypanum cruzi*» im Organismus des Ueberträgers.

Die Mehrzahl meiner Versuche über die Entwicklung des *Schizotrypanum cruzi* im Organismus des *Conorhinus* stellte ich an jungen Larven dieser Wanze an, welche im Laboratorium ausgeschlüpft waren. Erwachsene Insekten und Nymphen, welche in den Wohnungen von Patienten mit den bereits geschilderten Krankheitserscheinungen gesammelt wurden, zeigten fast durchwegs Flagellaten im Mittel- und Enddarm, weshalb sie

Nas ninfas, desde o 5.^o dia, o sangue, na porção quilifica do tubo digestivo, transforma-se em massa compacta, onde as pesquisas são difíceis.

As larvas só aceitam refeição 4 ou 5 dias apoz a eclosão. D'aí em diante, embóra com permanencia de sangue no intestino quilifico, sugam facilmente de 3 em 3 dias, repletando-se a cada refeição, ficando então com o abdome muito aumentado, de fórma ovoide.

De numerosas experiencias, realizadas sobre a evolução do *Schizotrypanum cruzi* no organismo do *Conorhinus*, temos colhido resultados do mais alto interesse, quer para a biologia particular daquelle flajelado, quer para o ponto de vista geral, para as questões de doutrina relativas ao mecanismo da transmissão dos hemoflajelados pelos invertebrados. Existem ainda, é certo, nesta parte de nosso trabalho, alguns pontos importantes não esclarecidos e cuja solução nos preocupa atualmente; do que ha feito, porém, será talvez possível tirar ilações aproveitaveis ás pesquisas similares, achando-se, em nossos resultados, esclarecidos muitos fenomenos, até aqui obscuros, do papel dos hospedeiros intermediarios nas tripanozomiazas.

Exporemos primeiro, simplesmente, nossas observações, estudando as transformações morfológicas do parasito nas diversas fazes do ciclo; em considerações finais procuraremos então interpretar os fatos adquiridos, concluindo de acordo com as experiencias realizadas.

Decorridas 6 horas apoz a injeção, pelo *Conorhinus*, de sangue contaminado, têm lugar as primeiras modificações evolutivas do parasito.

O blefaroplasto, que nos organismos normais se acha muito proximo ou exatamente na extremidade posterior da celula, caminha dali para as proximidades do nucleo, pondo-se em contato intimo com elle (Est. 11, Fig. 47 a 55). Si ha fuzão do blefaroplasto com o nucleo principal, não o sabemos com segurança, sendo, porém, provavel que isso aconteça, porquanto, em muitas fórmias, neste momento o blefaroplasto é visto no interior do nucleo, constituindo aí um corpusculo mais intensamente córado.

kein geeignetes Material für systematische Beobachtungen über den exogenen Entwicklungszyklus des Parasiten bilden.

Ueber die Infektiosität von Larven an ihrem natürlichen Fundort habe ich zur Zeit keine Erfahrung; jedoch zeigten sich die im Laboratorium gezüchteten nicht infiziert, obwohl die Eier von Exemplaren stammten, welche Flagellaten im Darne zeigten.

Es erschien notwendig, die Hypothese zu prüfen, dass die Flagellaten der beim Versuche gebrauchten Larven natürliche Parasiten derselben seien, die erblich übertragen werden und sich nach der Blutaufnahme vermehren; ich ging daher bei vielen meiner Untersuchungen so vor, dass ich die Möglichkeit dieser Fehlerquelle ausschloss. Ich teilte deshalb die, aus gleichzeitig abgelegten Eiern, ausgeschlüpften Larven in zwei Gruppen, von denen eine an einem infizierten Tiere, die andere an gesunden Tieren ernährt wurde. Die vielfach festgestellte Abwesenheit der Flagellaten im Darne der mit dem Blute normaler Tiere ernährten Larven und das gleichzeitige Vorkommen der Parasiten bei den andern schliesst vollständig den Einwand aus, dass eine hereditäre Infektion des Insektes und eine in demselben erfolgte Vermehrung präexistierter Parasiten vorliege.

Einige Phasen des Entwicklungszyklus der Flagellaten wurden bei erwachsenen Insekten festgestellt, bei welchen wir übrigens die an den Larven gemachten Beobachtungen oftmals wiederholten. Bei den Nymphen stossen die Untersuchungen auf grössere Schwierigkeiten, da bei denselben das Blut in dem chylusbildenden Teile des Mitteldarmes sich rasch verändert und vom dritten oder vierten Tage an eine äusserst kompakte und harte Masse darstellt, welche die Fixierung und Färbung des Parasiten fast unmöglich macht.

Der Darmkanal der *Conorhinuslarven* zeigt 15—20 Stunden nach der ersten Blutaufnahme eine zweifache Beschaffenheit seines Inhalts: Im chylusbildenden Teile des Mitteldarmes, welcher extrem erweitert und eiförmig erscheint, findet man rotes Blut im Stadium der beginnenden Verdauung; im engeren cylindrischen Teile ist eine schwarze körnige Flüssig-

Nesta primeira fase a maioria das formas já se apresenta sem flajelo e sem membrana ondulante, o que faz acreditar seja a perda destas duas estruturas o fenómeno inicial da evolução; alguns organismos, porém, com o blefaroplasto muito próximo do núcleo, possuem ainda flajelo, cuja porção livre tem, então, maior comprimento que nos parasitos normais. Os organismos, assim modificados, tornam-se depois redondos (Est. 11, Fig. 58) e entram em multiplicação, às vezes muito rápida, vendo-se grandes aglomerações de formas esféricas. Cumpre salientar que estas formas aparecem frequentemente sem blefaroplasto e que também se encontram figuras que denunciam nova formação do blefaroplasto achando-se elle ainda ligado ao núcleo principal pelo filamento central da divisão hetero-polar, e, finalmente, formas ha sem esta ligação entre os dois núcleos.

Estas formas são a principio aflajeladas e, nos preparados fixados humidos e córados pelo ROSENBUSCH, mostram a estrutura seguinte:

O plasma é alveolar, de colorido uniforme e apresenta, na superficie, delgada camada mais condensada, que é o periplasto. O núcleo, de forma esférica, colocado no centro da célula, mostra um grande cariozoma, em cujo centro, nos preparados mais diferenciados, é possível, às vezes nitidamente, verificar a presença do centriolo (Est. 13, Fig. 9).

Em torno do cariozoma existe largo espaço claro, a zona de suco nuclear, atravessada, no sentido transversal, por finas trabéculas de linina, limitada por membrana de contornos muito regulares. Esta membrana, ora se apresenta com aspeto homogéneo, ora mostra pequenos granulos de cromatina mais intensamente córados (Est. 13, Fig. 13) regularmente dispostos e equidistantes. A estes granulos prendem-se os filamentos de linina partidos do cariozoma.

O núcleo, assim descrito para a generalidade das formas observadas, apresenta algumas variantes, relativas, sobretudo, á quantidade da substancia cromatica contida na zona do suco nuclear, onde, às vezes, a cromatina

estão contenidas, welche das Endresultat der Blutverdauung darstellt. Nach 30 Stunden erscheinen im Rektum die Exkremente in Form einer gelblichen Flüssigkeit. Das Blut verweilt im Chylusdarm eine lange Zeit und wird daselbst noch 5 Tage nach der Aufnahme gefunden.

Bei erwachsenen, frisch gefütterten Insekten gleicht der Darmkanal demjenigen der Larven bis auf geringe Unterschiede; dagegen zeigen sie nach längerem, wenigstens 8-tägigem Fasten im Chylusdarme nicht Blut, sondern eine farblose schaumige Flüssigkeit.

Bei den Nymphen verändert sich das Blut im Chylusdarme, wie gesagt, vom 5. Tage an in eine kompakte Masse.

Die Larven nehmen die Nahrung erst 5 bis 6 Tage nach dem Ausschlüpfen an. Von da an und trotz des Fortbestehens vom Blut im Chylusdarme, saugen sie ohne Umstände von 3 zu 3 Tagen, indem sie ihn jedes mal vollständig anfüllen, sodass der Hinterleib sehr vergrößert und eiförmig erscheint.

Aus den vielfachen Versuchen über die Entwicklung des *Schizotrypanum cruzi* in *Conorhinus* gewann ich höchst interessante Resultate, sowohl in Hinsicht auf die specielle Biologie dieser Flagellaten, als auch in Beziehung auf die allgemeine Lehre über den Vorgang der Uebertragung der Hämoflagellaten durch blutsaugende Schmarotzer. Allerdings gibt es in diesem Teile meiner Untersuchung einige Punkte, die noch unaufgeklärt sind und mich gegenwärtig beschäftigen; doch kann man wohl aus dem bereits Festgestellten Schlüsse ziehen, welche für ähnliche Untersuchungen von Nutzen sind, da sich hier die Erklärung vieler bisher dunkler Erscheinungen in Beziehung auf die Rolle des Zwischenwirtes bei Trypanosomenerkrankungen findet.

Ich gebe zuerst nur meine Beobachtungen wieder, aus welchen die morphologischen Veränderungen des Parasiten in den verschiedenen Entwicklungsstadien ersichtlich sind; hierauf werde ich die Tatsachen zu erklären und aus den zahlreichen Experimenten endgiltige Schlüsse zu ziehen suchen.

Sechs Stunden nach der Aufnahme des parasitenhaltigen Blutes durch den *Conorhinus* gehen die ersten Veränderungen des Para-

é mais abundante, constituindo, em algumas formas, fina rede na superfície interna da membrana nuclear. São variações que, na teoria de HARTMANN, devem ser atribuídas ás modificações cíclicas do cariozoma (lançamento de cromatina na zona de suco nuclear) e que são comparáveis a fenomenos similares observáveis na *Amoeba tetragena*.

O blefaroplasto apresenta aqui aspeto comparavel ao descrito nos flajelados do sangue. Nelle existe um grande cariozoma, quasi sempre constituído por espessa barra de substancia cromatica, (Est. 13, Fig. 9 e 11) curva, apresentando concavidade voltada, — nas formas jovens aflajeladas — para o lado do nucleo. Cérca o cariozoma do blefaroplasto zona clara, na qual não são viziveis filamentos cromaticos; é a zona do suco nucleo-blefaroplastico limitada por delgada membrana de contornos pouco regulares.

A posição do blefaroplasto é, como já dissemos, variavel, achando-se, óra colocado no interior do nucleo, em qualquer ponto da zona do suco nuclear, óra aderente á superficie externa da membrana delle, óra, finalmente, distante do nucleo, a este ligado, ás vezes, pelo filamento central da divizão hetero-polar.

Nos preparados córados pelo GIEMSA, nesta como nas fazes seguintes da evolução exojena do flajelado, encontram-se granulações córadas em vermelho intenso, de dimensões variáveis. São identicas ás descritas por ROSENBUSCH nas culturas de hemoproteo e parecem ser granulações de volutina (SWELLENGREBEL).

A formação do aparelho flajelar inicia-se, muitas vezes, nestas formas esfericas, encontrando-se então, (Est. 13, Fig. 9, 11 e 12) como resultado da divizão heteropolar do blefaroplasto, um cone de fibrilas, o *fuzo central com o rizoplasto do centro*, que apresenta no apice um granulo de substancia cromatica, o *corpusculo bazal*, orijem do flajelo. Algumas vezes, nas formas esfericas, o flajelo só tem porção intra-celular, não existindo ainda, aí, flajelo livre; em alguns organismos, porém, já se encontra flajelo livre, que, frequentemente atinje grande comprimento.

siten vor sich. Der Blepharoplast, welcher beim normalen Organismus sich sehr nahe oder ganz am Hinterende der Zelle befindet, wandert von dort in die Nähe des Nucleus und tritt mit demselben in innige Berührung. (Taf. 11, Fig. 47 und 55). Ob eine Verschmelzung des Blepharoplasten mit dem Hauptkerne stattfindet, weiss ich zwar nicht gewiss, doch ist es wahrscheinlich, da man bei vielen Formen zu dieser Zeit den Geisselkern im Innern des Nucleus sieht und zwar in Gestalt eines stärker gefärbten Körnchens.

In diesem ersten Stadium zeigt sich die Mehrzahl der Formen bereits ohne Geissel und undulierende Membran, sodass man den Verlust dieser beiden Strukturen als die erste Erscheinung der Entwicklung auffassen kann; doch besitzen einige Formen, deren Blepharoplast dem Kerne sehr genähert ist, noch eine Geissel, deren freier Teil dann länger erscheint, als bei der normalen Parasitenform. Nach dieser Veränderung rundet sich der Organismus ab (Taf. 11, Fig. 58) und vermehrt sich, oft sehr schnell, durch Teilung, sodass man grosse Haufen von runden Formen sieht. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass diese Formen häufig keinen gesonderten Blepharoplast zeigen und dass man Bilder trifft, die auf eine Neuentstehung des Blepharoplasten hinweisen. So findet er sich bald im Innern des Kernes, an einem beliebigen Punkte der Kernsaftzone, bald an der Aussenfläche — der Membran anliegend oder vom Nucleus entfernt, aber mit diesem manchmal durch die Centralfaser der heteropolaren Teilung verbunden —; schliesslich kann auch eine solche Verbindung fehlen. Diese Formen sind anfangs geissellos und zeigen in feuchtfixierten und nach ROSENBUSCH gefärbten Präparaten folgende Struktur: das Plasma erscheint alveolär und zeigt in der Oberfläche eine schmale Zone stärkerer Verdichtung, welche den Periplast darstellt. Der runde, im Zentrum der Zelle gelagerte, Kern zeigt ein grosses Caryosom, in dessen Zentrum man bei gut differenzierten Präparaten oft ganz deutlich ein Centriol (Taf. 13, Fig. 9) wahrnimmt. Das Caryosom ist von einem breiten hellen Hofe, der Kernsaftzone umgeben, welche

Sobre o flajelo, geralmente na extremidade d'elle, é visto muitas vezes um segundo granulo cromatico, menor que o corpusculo basal, de colorido semelhante ao daquelle. A presença de tal corpusculo se liga ao mecanismo de formação do flajelo, representando elle, de acôrdo com a teoria de SCHAUDINN, o centriolo da segunda divizão hetero-polar.

Este fato foi tambem verificado por HARTMANN nos microgámetas do proteozoma e por ROSENBUSCH em diversos tripanozómidas.

Em continuação ás fórmias precedentes encontram-se no intestino quilifico organismos mais desenvolvidos, alguns piriformes, com extremidade afilada, pela qual emerge o flajelo, e o lado oposto mais ou menos rombo, ás vezes regularmente arredondado (Est. 13, Fig. 12, 21 e 22). Nestas fórmias, óra existe flajelo livre, óra só é encontrada a porção intracelular do flajelo; nellas a estrutura é semelhante á descrita para os organismos esfericos sendo, porém, mais acentuadas algumas das minucias estruturais que referimos. Assim é que na membrana do nucleo frequentemente são vistos os granulos cromaticos, o mais das vezes em numero de 8 (Est. 13, Fig. 21) e o blefaroplasto apresenta estrutura nuclear mais bem caracterizada (Est. 13, Fig. 12 e 21). Nesta faze é comum observar o fenomeno de divizão prévia do nucleo, referido nos flajelados do sangue, sendo demonstrativo deste fato um dos nossos desenhos (Est. 13, Fig. 22) no qual o cariozoma do nucleo principal mostra dois centriolos, o mesmo acontecendo ao cariozoma do nucleo-blefaroplasto. Neste os dois centriolos se acham ligados por filamento central, que é formado pela divizão do centriolo.

A posição do blefaroplasto é aqui variavel, sendo elle encontrado quazi sempre atraz do nucleo, afastado da extremidade ponte aguda (Est. 13, Fig. 21 e 22) podendo tambem ser visto ao lado do nucleo principal.

Simultaneamente com os ultimos organismos vêm-se outros menores, geralmente aflajelados (Est. 11, Fig. 58—59) ou só apresentando a baze do aparelho flajelar, de fórmula ovoide, com a estrutura do nucleo e a do

von feinen Linienbalkchen durchsetzt und von einer regelmässig begrenzten Membran umschlossen ist. Diese Membran erscheint bald homogen, bald zeigt sie kleine Chromatin-Granula, die stärker gefärbt und regelmässig, in gleichen Abständen angeordnet sind. (Taf. 13, Fig. 13). An diese Körnchen schliessen sich die Lininfäden, welche vom Caryosom ausgehen.

Der Kern, den ich so beschrieben habe, wie er in der Regel bei den beobachteten Formen auftritt, zeigt oft eine Abänderung; dieselbe bezieht sich hauptsächlich auf die Menge der chromatischen Substanz, welche in der Kernsaftzone enthalten ist; hier tritt das Chromatin manchmal reichlicher auf, sodass es bei einigen Formen an der Innenfläche der Kernmembran ein feines Netzwerk bildet. Es sind dies Bilder, welche (nach der Theorie von HARTMANN) auf zyklische Veränderungen des Caryosoms zurückzuführen sind (Abgabe von Chromatin in die Kernsaftzone) und sich mit ähnlichen Erscheinungen bei der *Amoeba tetragena* vergleichen lassen. Der Blepharoplast zeigt hier Aehnlichkeit mit dem Bilde, welches von Blutflagellaten beschrieben wurde; er enthält ein grosses Caryosom, welches fast immer von einem dicken und gekrümmten Chromatinbalken gebildet ist (Taf. 13, Fig. 9 und 14), welcher bei jungen geissellosen Formen mit der Konkavität dem Kerne zugewandt ist. Das Caryosom des Blepharoplasten ist von einer hellen Zone umgeben, in welcher weder Chromatin noch Linin sichtbar sind. Es ist dies seine Kernsaftzone, welche durch eine feine, nicht sehr regelmässig konturierte, Membran begrenzt wird.

In dieser und den darauffolgenden Phasen des exogenen Entwicklungszyklus des Flagellaten finden sich, in nach GIEMSA gefärbten Präparaten, intensiv rot gefärbte Granulationen von wechselnder Grösse im Innern des Plasma. Sie entsprechen den von ROSENBUSCH in den Kulturen von *Hämoproteus* beschriebenen und scheinen aus Volutin (SWELLENGREBEL) zu bestehen.

Die Bildung des Geisselapparates beginnt häufig bei diesen runden Formen; man findet dann (Taf. 13, Fig. 9, 11 und 12) als Resultat der heteropolaren Teilung des Blepharoplasten

blefaroplasto idénticas á referida. Destas fórmas encontram-se frequentemente aglomerações consideráveis, o que indica, nellas, ativa multiplicação.

Divisão dos flajelados no intestino quilífico.

Em qualquer das fórmas descritas do parasito, a multiplicação, por cizão longitudinal, na primeira parte do intestino médio, é muito ativa, sendo encontrados organismos com nucleos e blefaroplastos multiplos, óra com 2 blefaroplastos e 1 só nucleo principal, fato o mais frequente; óra, ao contrario, com 2 nucleos principais e 1 só blefaroplasto; óra, finalmente, com igualdade das duas especies de nucleos. Tambem se observam estadios varios da divisão celular, sendo frequente, nas grandes aglomerações de fórmas esfericas ou ovoides, acharem-se os parasitos ligados entre si por meio de delgadas laminas de plasma. Variantes multiplas de aspeto são ainda vistas, relativas ao nucleo principal e ao blefaroplasto, á presença ou auzencia de flajelos. Assim é que frequentes vezes vêm-se fórmas com um só nucleo principal e 2 blefaroplastos, cada um destes possuindo um aparelho flajelar. Parece, da maioria de aspetos observados, ser a divisão do nucleo principal quazi sempre precedida pela do blefaroplasto; aliaz nas figuras de mitoze que surpreendémos, o mais das vezes a mitoze do blefaroplasto se acha em faze mais adiantada que a do nucleo principal.

Os preparados fixados secos e córados pelo GIEMSA, nada ensinam dos fenomenos intimos dos 2 nucleos, pelo que, nossas pesquisas sobre este ponto foram feitas com o metodo de ROSENBUSCH. Não nos foi possível, por emquanto, surpreender todas as fazes da divisão dos nucleos principal e locomotor; procedemos atualmente a novos estudos, cujos resultados serão referidos mais tarde. Alguns estadios que observámos da mitoze do nucleo principal e do blefaroplasto são muito interessantes, merecendo exposição minucioza. As Figs. 83—86 da Est. 13 representam fazes terminais de mitoze. Nestas mesmas figuras observam-se as telofazes

ten, einen Faserkegel, die Centralspindel, welche den Rhizoplasten umgiebt; erstere zeigt an ihrer Spitze ein Chromatinkorn, das Basalkörperchen, von welchem die Geissel entspringt.

Manchmal haben diese runden Formen keine freie Geissel, sondern nur den intracellulären Teil derselben; doch findet sich bei einem Teil der Organismen eine freie Geissel, die nicht selten eine bedeutende Länge erreicht.

An dieser Geissel, gewöhnlich an ihrem Ende, sieht man häufig ein zweites Chromatinkorn, welches kleiner ist, als das Basalkörperchen, demselben aber in der Färbung gleicht.

Das Vorkommen eines solchen Körperchens entspricht der Bildungsweise der Geissel, indem es nach der Theorie von SCHAUDINN das Centriol einer zweiten heteropolaren Teilung darstellt. Diese Auffassung ist ja auch von HARTMANN für die Mikrogameten von *Proteosoma* und von ROSENBUSCH für verschiedene Trypanosomiden begründet worden.

Einer weiteren Entwicklung der beschriebenen Form entsprechend, findet man im Chylusdarme Organismen, die zum Teil birnförmig sind; vom zugespitzten Ende entspringt die Geissel, während das andere mehr oder weniger stumpf und nicht selten regelmässig gerundet erscheint (Tafel 13, Fig. 12, 21 u. 22). Bei diesen Formen findet sich bald eine freie Geissel, bald nur der intracelluläre Teil einer solchen; ihre Struktur gleicht derjenigen der sphärischen Organismen, doch sind einige der beschriebenen Strukturdetails deutlicher ausgeprägt; so sieht man in der Kernmembran häufig Chromatingranula, gewöhnlich deren acht, (Taf. 13, Fig. 21), und der Blepharoplast zeigt eine deutlichere Kernstruktur (Taf. 13, Fig. 12, u. 21). In dieser Phase beobachtet man häufig die, schon von den Blutflagellaten bekannte, vorläufige Kernteilung, wie dies eine meiner Zeichnungen (Tafel 13, Fig. 22) darstellt, in welcher das Caryosom des Hauptkernes zwei Centriolen zeigt, wie es auch bei den Caryosom des Blepharoplastkernes der Fall ist. Bei diesem finden sich die Centriolen an beiden Enden verbunden durch die Fibrille der Centralfaser, welche durch Teilung des Centriols selbst gebildet wird.

Auch hier ist die Lage des Blepharoplasten

de divisão do blefaroplasto e do nucleo principal. No blefaroplasto, ligando as duas metades da figura, permanece o filamento central do fuзо, cujas extremidades prendem-se aos dois centriolos colocados nos centros dos cariozomas. Num destes ha divisão precoce do centriolo, destinada, talvez, á formação do aparelho flajelar ou á nova mitoze do blefaroplasto. A mitoze do nucleo principal se acha em estadio mais atrazado, vendo-se as duas metades da figura ligadas ainda pelo fuзо central da divisão (*Centralspindel*) em cujo centro existe o filamento central (*Centralfaser*), que tem nas extremidades os dois centriolos. Os novos cariozomas já se acham organizados, e tambem as zonas de suco nuclear, com as membranas envolventes. Fatos similares vêm demonstrados á Fig. 10 da Est. 13. A Fig. 83 da Est. 13 representa a fase terminal da mitoze do nucleo principal, achando-se os 2 nucleos filhos ligados pelo *Centralspindel* (fuзо central e filamento). As substancias dos dois cariozomas apresentam-se aí dispostas em dois cones, a cujos apices se acham prezas as extremidades do fuзо. Nas Figs. 84 e 85 da Est. 13 vêm-se ainda fazes terminais de mitozes, sendo de notar aí a divisão do centriolo de alguns blefaroplastos.

Estas observações são relativas ás fórmulas esfericas aflajeladas, ficando para mais tarde a referencia de fenomenos similares que temos observado em fórmulas flajeladas, quer nas fórmulas novas, quer em organismos criticidais completamente desenvolvidas.

Devemos salientar aqui a evidencia do papel do centriolo nas mitozes do nucleo principal e do blefaroplasto, atuando elle, cuja divisão precede sempre á das outras partes do nucleo, como o órgão orientador do fenomeno. E' esta nova demonstração, bem clara, da teoria de v. PROWAZEK e HARTMANN, para quem o centriolo do cariozoma representa, na mitoze dos protozoarios, função identica á do centriolo do centrozomio nas celulas dos metazoarios. Alias, observações multiplas sobre fenomenos de divisão nuclear, em outros grupos de protozoarios, fazem-nos absolutamente convencido das idéas daquelles inves-

eine wechselnde; gewöhnlich findet man ihn hinter dem Nucleus, entfernt vom zugespitztem Ende (Taf. 13, Fig. 21 u. 22); doch kann er auch neben dem Hauptkerne getroffen werden.

Gleichzeitig mit den letztbeschriebenen Formen findet man andere kleinere und gewöhnlich geissellose (Taf. 13, Fig. 58-59) oder nur die Basis derselben zeigende, von ovaler Form und mit, wie oben beschrieben, gebildetem Kerne und Blepharoplasten. Dieselben finden sich oft in beträchtlichen Gruppen, was eine rasche Vermehrung andeutet.

Teilung der Flagellaten im Chylusdarme.

Bei allen den oben beschriebenen Parasitenformen ist die Vermehrung durch Längsteilung im Anfangsteile des Mitteldarmes sehr lebhaft, wobei man Exemplare mit mehrfachen Blepharoplasten und Kernen findet; man trifft entweder 2 Blepharoplasten und einen Hauptkern, was am häufigsten vorkommt, oder im Gegenteil 2 Hauptkerne neben einem Blepharoplasten oder endlich beide Kernarten in der gleichen Zahl. Auch beobachtet man verschiedene Stadien der Zellteilung, wobei man in den grossen Haufen von runden und eiförmigen Formen nicht selten durch dünne Plasmenlamellen verbundene Parasiten antrifft. Auch finden sich verschiedene Kombinationen in Beziehung auf Hauptkern und Blepharoplast und das Fehlen oder Vorhandensein von Geisseln.

So findet man häufig Formen mit einem Hauptkern und 2 Blepharoplasten, von denen jeder einen Geisselapparat besitzt. Nach der Mehrzahl der Beobachtungen scheint die Teilung des Hauptkernes gewöhnlich derjenigen des Blepharoplasten zu folgen; übrigens findet sich auch bei den Teilungsphasen, die ich beobachtete, gewöhnlich die Mitose des Blepharoplasten weiter vorgerückt, als diejenige des Hauptkernes.

Trocken fixierte und nach GIEMSA gefärbte Präparate geben über die Einzelheiten der Kernteilung keinen Aufschluss, weshalb ich meine diesbezüglichen Untersuchungen nach ROSENBUSCH'scher Methode anstellte. Bis jetzt gelang es mir nicht, alle Phasen der Teilung

tigadores. Por outro lado, a mitose do blefaroplasto, que neste parasito apresenta aspeto de grande nitidez e regularidade, vem confirmar ainda a natureza nuclear daquelle orgão, cuja estrutura, na condição dinamica, quanto na estatica, é inteiramente comparavel á do nucleo principal.

Os nossos resultados estão, por conseguinte, em pleno accordo com os novos achados de ROSENBUSCH sobre outros tripanozómidas e confirmam a interpretação sobre as condições do nucleo da célula dos tripanozómidas dada por SCHAUDINN e seus sucessores.

Flajelados da porção posterior ou intestinoforme do intestino médio do *Conorhinus*.

Ainda na porção quilifica do intestino médio, 25 horas apoz a injeção de sangue, encontram-se novas fórmulas parasitarias que representam estados evolutivos mais adiantados das fórmulas descritas. Aí, porém, tais organismos são raros, parecendo que pouco tempo permanecem, apoz sua formação, neste segmento do tubo digestivo, depressa passando para a porção cilíndrica posterior, onde são vistos em grande numero.

Na porção intestinoforme do intestino médio, desde a 15.^a hora, encontra-se, como dissemos, liquido negro, que representa faze mais adiantada da digestão do sangue; os parasitos, porém, só aparecem neste liquido depois da 25.^a hora e aí, devido á rapida multiplicação, tornam-se numerozissimos, permanecendo indefinidamente vivos, embóra deixadas as larvas sem alimentação, infetante ou não, durante longos dias.

Estes flajelados são de morfologia inteiramente identica á dos que existem no intestino de conorrinos adultos, colhidos nas zonas infetadas. Tambem nestes, privados de alimentação por muito tempo, os flajelados permanecem em plena atividade, mostrando mesmo fenomenos de multiplicação.

Os flajelados desta parte do intestino médio apresentam grande variedade de aspetos, predominando, porém, os organismos critidiiformes adultos Fig. 13—20, Est. 13. Estes

des Haupt- und lokomotorischen Kernes aufzufinden; doch bin ich mit weiteren Beobachtungen beschäftigt, über deren Resultate später berichtet werden soll. Einige Stadien der Mitose des Hauptkernes und Blepharoplasten, die ich beobachtete, sind sehr interessant und verdienen eine nähere Beschreibung. Die Fig. 83—86 der Taf. 12 zeigen die Endstadien der Mitose; in denselben Figuren sieht man die Telophasen der Teilung des Blepharoplasten und Hauptkernes. Die beiden Hälften der Figur verbindend, ist im Blepharoplasten die Centrifaser der Spindel erhalten und ihre Enden verbinden die beiden Centriolen, welche im Centrum der Caryosome liegen. Bei einem derselben bemerkt man eine vorzeitige Teilung des Centriols, die scheinbar für die Bildung des Geisselapparates oder eine neue Mitose des Blepharoplasten bestimmt ist. Die Mitose des Hauptkernes ist weniger vorgeückt, indem die Hälften der Teilungsfigur noch durch die Centralspindel und die, in der Mitte gelegene, Centrifaser mit den an beiden Enden gelegenen Centriolen verbunden sind. Die neuen Caryosomen, die Kernzonen und die umhüllenden Membranen sind bereits gebildet. Aehnliche Vorgänge erkennt man in der Fig. 10, Taf. 13. Die Fig. 13 der Taf. 12 zeigt das Ende der Mitose des Hauptkernes, wobei die beiden Tochterkerne durch Centralspindel und -Faser verbunden sind. Die Substanz der beiden Caryosomen erscheint hier in 2 Kegel angeordnet, an deren Spitzen sich die Enden der Spindel anlegen. In den Fig. 84 und 85 der Taf. 12 sieht man auch noch Endstadien der Mitose, wobei man die Teilung der Centriolen einiger Blepharoplaste erkennt.

Diese Beobachtungen beziehen sich auf die Mitose der runden, geissellosen Formen; auf eine spätere Zeit verschiebe ich den Bericht über ähnliche Erscheinungen, die ich an geisseltragenden Formen und zwar teils an jungen Stadien, teils an voll entwickelten Crithidienformen, beobachtet habe.

Ich muss hier die Rolle der Centriolen bei den Mitosen des Kernes und des Blepharoplasten hervorheben, welche sie unzweifelhaft als orientierende Organe des Teilungsphänomens spielen, indem ihre Teilung immer derjenigen

são parasitos alongados, de largura variavel, com ambas as extremidades ponteagudas, apresentando, na coloração pelo metodo de ROSENBUSCH, plasma alveolar. A extremidade anterior prolonga-se em longo filamento delgado; a posterior, óra termina abruptamente em ponta aguda, óra se mostra arredondada, óra, finalmente, é tambem longa e aguda, menos delgada que a oposta.

O nucleo apresenta estrutura semelhante á das fórmulas anteriores: um cariozoma, em cujo centro é muitas vezes apreciavel centriolo, zona de suco nuclear, atravessada de finas e regulares trabeculas de linina, membrana onde, de regra, é vizivel a diferenciação de 8 ou mais granulos de cromatina. Nas fórmulas longas o nucleo principal acha-se situado mais ou menos no meio do eixo longitudinal do parasito.

O blefaroplasto mostra, ainda aqui, a nitida estrutura nuclear já descrita. Está situado, óra para frente do nucleo principal, sempre em posição lateral, nunca no eixo longitudinal da celula, óra ao lado do nucleo principal. Nunca, nos flajelados desta zona do tubo digestivo, é visto o blefaroplasto atraz do nucleo principal.

A baze do aparelho flajelar não oferece neste cazo outras minucias além das referidas; nestes organismos, porém, existe a membrana ondulante, colocada sobre todo o prolongamento delgado anterior da celula e apresentando, de regra, muitas ondulações.

Além destes flajelados, encontram-se outros, piriformes ou esfericos, nos quais existe prolongamento plasmatico muito fino, munido de membrana ondulante e de flajelo; nestes o flajelo livre é, ás vezes, muito longo, em grande desproporção com as dimensões da celula (Est. 13, Fig. 87).

Estadios intermediarios multiplos, no ponto de vista do aspeto e da fórmula geral, existem entre os organismos esfericos pequenos e as fórmulas adultas longas de critidias; todos os parasitos, porém, encontrados neste segmento do intestino médio, apresentam-se munidos de flajelo.

der anderen Kernbestandteile vorangeht. Es bildet dies einen deutlichen Beweis zu Gunsten der Theorie von v. PROWAZEK und HARTMANN, nach welcher das Centriol der Caryosome bei der Mitose der Protozoen dieselbe Funktion hat, wie die Centrosome der Metazoenzelle. Uebrigens haben mich auch vielfältige Beobachtungen über die Kernteilung bei anderen Protozoengruppen vollständig von der Richtigkeit ihrer Anschauungen überzeugt. Auf der anderen Seite dient die, bei diesen Parasiten sehr deutliche und regelmässige, Mitose des Blepharoplasten zur weiteren Bestätigung der Kernnatur dieses Organes, dessen Struktur, ebensowohl im aktiven, wie im Ruhezustande vollständig derjenigen des Hauptkernes gleicht. Meine Resultate stehen somit in vollständiger Uebereinstimmung mit den neuen Befunden von ROSENBUSCH an anderen Trypanosomen und bestätigen die Auffassung der Kernverhältnisse der Trypanosomenzelle, wie sie von SCHAUDINN und seinen Nachfolgern vertreten wird.

Flagellaten des hinteren oder cylindrischen Teiles des Mitteldarmes des Conorhinus.

Noch im vorderen Teile des Mitteldarmes findet man 25 Stunden nach der Blutaufnahme weitere Parasitenformen, welche vorgerückteren Entwicklungsstadien der bereits beschriebenen Formen entsprechen. Doch sind daselbst solche Formen selten und es scheint, dass sie nach ihrer Bildung nur kurze Zeit in diesem Darmabschnitt verbleiben, um bald in den hinteren cylindrischen Teil überzutreten, woselbst sie in grosser Zahl zu finden sind. Im cylindrischen Teile des Mitteldarmes findet man, wie gesagt, von der 15. Stunde an eine schwarze Flüssigkeit, welche das Produkt einer vorgeschritteneren Verdauung des Blutes darstellt; die Parasiten erscheinen jedoch in dieser Flüssigkeit erst nach 25 Stunden und werden hier in Folge einer rapiden Vermehrung äusserst zahlreich, wobei sie sich unbeschränkte Zeit erhalten, trotzdem man die Larven während vieler Tage ohne infektiöse oder anderweitige Nahrung belässt. Diese Flagellaten gleichen in ihrer Morphologie vollständig denjenigen im Darne erwachsener

Nos preparados fixados secos e corados pelo GIEMSA ha só que referir a presença de abundantes granulos vermelhos, irregularmente espalhados pelo plasma e que são, provavelmente, rezultantes do metabolismo celular. (Fig. 62-69, Est. 11)

Rapida multiplicação experimenta o parazito nesta faze evolutiva, sendo, por isso, encontradas grandes aglomerações de fórmias, ligadas entre si por delgadas pontes plasmáticas, vendo-se tambem critidias plurinucleadas e divizões celulares incompletas. Os flajelados adultos dividem-se lonjitudinalmente, apresentando diversos aspetos, desde a divizão lonjitudinal binaria, a mais comum, até a divizão lonjitudinal multipla, na qual fórmias aberrantes de critidias, muito volumozas, mostram muitos nucleos.

Os organismos descritos permanecem por tempo indeterminado no intestino e são encontrados nos escrementos, em pequeno numero. Não conhecemos qualquer outra faze que possa ser interpretada como a continuação desta, apesar das numerozas pesquisas realizadas.

Em todos os insetos experimentados, sem uma unica exceção, os fatos passam-se conforme acabámos de referir; algumas experiencias, porém, deixam observar ainda outros fenomenos diferentes que, embóra não esclarecidos de modo satisfatorio, devem ser expostos desde já, visto representarem, a nosso ver, fatos de grande importancia na biologia do parazito:

Das larvas experimentalmente infetadas algumas mostram, ao lado dos organismos descritos, outros de morfologia completamente diversa. Assim é que, de 20 a 30 horas apoz a injeção de sangue, encontrámos em muitas larvas organismos esfericos (Est. 12, Fig. 78—82) munidos de camada periferica condensada, semelhante a membrana, e possuindo grande nucleo que ocupa talvez 2 terços da celula. Este nucleo apresenta, óra na periferia, óra no centro, um corpusculo de cromatina intensamente corado, com o aspeto de blefaroplasto; este é visto ainda separado do nucleo, colocado na superficie do organismo e fre-

*Conorhinus*wanzen, welche in infizierten Zonen gesammelt wurden. Auch bei diesen bleiben die Flagellaten in voller Tätigkeit, selbst bei lang andauerndem Nahrungsmangel, und zeigen sogar Vermehrungserscheinungen.

In diesem Teile des Mitteldarmes weisen die Flagellaten sehr verschiedene Formen auf, unter denen jedoch die erwachsenen Organismen vom Crithidiatypus vorwiegen. Diese Parasiten sind länglich, von wechselnder Breite, an beiden Enden zugespitzt und zeigen bei der Färbung nach ROSENBUSCH ein alveoläres Protoplasma. Das Vorderende verlängert sich in einen langen dünnen Faden; das hintere endet plötzlich mit einer scharfen Spitze oder zeigt sich abgerundet; endlich kann es auch lang und zugespitzt, aber weniger schlank als das entgegengesetzte, gefunden werden.

Der Kern zeigt eine ähnliche Struktur, wie bei den früher beschriebenen Formen, nämlich: ein Caryosom, in dessen Zentrum man häufig ein Centriol erkennt, eine Kernsaftzone, die von feinen, regelmässigen Linien-Bälkchen durchsetzt ist und eine Kernmembran, von der in der Regel 8 oder mehr Chromatinkörner sich abheben; bei den längeren Formen befindet sich der Hauptkern ungefähr in der Mitte der Längsachse des Parasiten.

Der Blepharoplast zeigt auch hier die bereits beschriebene, deutliche Kernstruktur. Er befindet sich bald zur Seite des Hauptkernes, bald vor demselben, aber immer in seitlicher Lage, niemals in der Längsachse der Zelle; dagegen wird bei den Flagellaten aus diesem Teile des Darmtraktes der Blepharoplast niemals hinter dem Hauptkerne gefunden.

Die Basis des Geisselapparates zeigt nur die bereits beschriebenen Details; dagegen findet man bei diesen Organismen eine undulierende Membran, welche dem ganzen dünnen Fortsatze des Vorderendes der Zelle folgt und gewöhnlich viele Wellen zeigt; ausser diesen länglichen Flagellaten findet man andere von Birn- oder Kugelform, bei welchen ein sehr dünner, mit Geissel und undulierender Membran versehener, Plasmavorsatz vorkommt; bei diesen ist die freie Geissel nicht selten sehr lang und ganz ausser Verhältnis mit den Dimensionen der Zelle (Taf. 2, Fig. 87).

quentemente apresenta-se bilobado, como se fôra o resultado da união de 2 corpusculos identicos (Est. 12, Fig. 80—81).

A quantidade destas fórmulas era muito variavel, sendo encontradas com abundancia em todas as larvas alimentadas em certos animais e raras ou ausentes nas alimentadas em outros. Do determinismo do aparecimento destes organismos nada sabemos ainda, esperando esclarecel-o bem depressa; é, porém, de notar a frequencia com que os encontramos nas larvas alimentadas em *Callithrix*, com infeção antiga, ao passo que nas alimentadas em cobaias, mesmo infetadas desde muito, com numerosos parasitos, rarissimas vezes observámos aquellas fórmulas. Infelizmente só uzámos, nas pesquisas deste ponto, a fixação a seco e a coloração pelo metodo de GIEMSA, o que explica, em parte, a dificuldade na interpretação dos aspetos observados.

Importantes são ainda as fórmulas de esquizogonia que observámos em 3 experiencias, de 140 a 150 horas apoz a refeição, no sangue, em via de digestão, contido na porção quilifica do intestino médio. Estas se apresentam constituídas de 8 pequenos organismos mais ou menos ovoides, presos por massa de plasma central (Est. 12, Fig. 89). Em cada existe um nucleo longo e numa das extremidades um corpusculo de cromatina mais intensamente córado, com o aspeto de blefaroplasto. Aquellas unidades da fórmula esquizogonica são vistas, no mesmo material, já separadas (Est. 12, Fig. 90—97), óra em aglomerações, óra izoladas; mostram nitidamente um nucleo principal e um blefaroplasto, tendo, o primeiro, a cromatina, ás vezes, disposta em longa fita e outras já condensada em corpo ovoide. O blefaroplasto, óra está unido ao nucleo, numa das extremidades (Est. 12, Fig. 91), óra delle afastado, ligado ou não por filamento cromatico (Est. 12, Fig. 95—97). E' aspeto estrutural bem tipico dos tripanozómidas, similar, em alguns pontos, ao que se observa nas unidades da esquizogonia no pulmão e tambem em alguns estadios jovens do flajelado, no sangue. Não é possivel duvidar de que estes organismos representam

Zwischen den kleinen runden und den erwachsenen langen crithidienartigen Formen finden sich vielfache Uebergänge in der allgemeinen Gestalt; doch zeigen alle parasitären Formen aus diesem Teile des Mitteldarmes eine Geissel.

Bei trocken fixierten und mit GIEMSA gefärbten Präparaten ist noch das Vorkommen zahlreicher roter Körnchen zu verzeichnen; dieselben sind unregelmässig im Plasma verteilt und müssen wahrscheinlich als Produkte des Stoffwechsels aufgefasst werden (Fig. 62-69, Taf. 11).

In dieser Entwicklungsphase des Parasiten findet eine rasche Teilung statt, weshalb man oft eine grosse Anhäufung von Formen findet, welche unter sich durch feine Plasmabrücken verbunden sind; auch findet man Crithidienformen mit mehreren Kernen und unvollständige Zellteilungen. Die erwachsenen Flagellaten teilen sich der Länge nach und bieten verschiedene Bilder, von der einfachen longitudinalen Zweiteilung bis zur vielfachen Längsteilung, bei welcher aberrante Crithidienformen von grossem Volumen mehrfache Kerne aufweisen.

Die beschriebenen Organismen verharren unbestimmte Zeit im Darne und werden in geringer Zahl in den Exkrementen gefunden. Trotz zahlreicher Untersuchungen kenne ich keine andere Phase, welche als ein weiterer Zustand aufgefasst werden könnte.

Bei sämtlichen untersuchten Insekten beobachteten wir ausnahmslos die soeben beschriebene Reihe von Erscheinungen; doch wurden in einigen Versuchen noch andere Vorkommnisse beobachtet, welche zwar noch nicht genügend aufgeklärt sind, aber doch hier aufgeführt werden müssen, da sie meiner Ansicht nach wichtige Erscheinungen in der Biologie des Parasiten darstellen.

Bei künstlich infizierten Larven zeigen einige neben beschriebenen Formen andere von ganz verschiedener Morphologie. So finden wir 20 bis 30 Stunden nach der Blutaufnahme bei vielen Larven runde Organismen (Taf. 12, Fig. 78-82), die eine verdichtete periphere Schicht aufweisen, welche einer Membran gleicht, und ausserdem einen grossen Kern besitzen,

faze no ciclo do flajelado no inseto, restando apenas conhecer melhor as fazes precedentes e as posteriores a esta. Acreditamos, impressionado pela semelhança dos aspetos cromáticos, que as fórmulas de esquizogonia representam a divisão dos organismos esféricos a que nos referimos, as quais seriam, talvez, ooquistos, resultantes de fecundação não surpreendida.

Formas parasitarias na cavidade geral do inseto.

Encontrámos fórmulas do flajelado, em 2 casos, na cavidade geral do *Conorhinus*. Estes haviam sido colhidos em habitações infetadas e estavam sem sugar qualquer vertebrado desde muitos dias, não apresentando vestígio de sangue no intestino quilífico, tendo, porém, no intestino posterior e nos escrementos grande numero de fórmulas criticidais.

Nas observações sistematicamente realizadas não conseguimos ainda surpreender parasitos na cavidade geral, pelo que pensámos ser a permanencia delles ali muito tranzitoria, depressa passando ás glandulas salivares.

As fórmulas vistas nas duas experiencias são organismos apresentando longa faixa de cromatina no nucleo e grande blefaroplasto oval, óra situado na extremidade posterior, óra ainda distante desta; possuem membrana ondulante e flajelo livre e apresentam organização morfológica muito semelhante á das fórmulas encontradas nas glandulas salivares (Est. 11, Fig. 71-73).

Fórmulas parasitarias encontradas nas glandulas salivares do *Conorhinus*.

Em 3 experiencias encontrámos, em «frotis» de glandulas salivares de conorrinos, fórmulas de evolução do *Schizotrypanum cruzi*, as quais representam, sem duvida, os organismos que são inoculados no vertebrado.

Uma das verificações foi feita em inseto adulto que havia picado um *Callithrix* infetado, 12 dias antes. Nesta, em exame a fresco do material das glandulas salivares (glandulas

welcher vielleicht zwei Drittel der Zelle ausfüllt. Dieser Kern zeigt bald im Zentrum, bald an der Peripherie ein intensiv gefärbtes Chromatinkörperchen vom Aussehen eines Blepharoplasten; dasselbe wird auch, vom Kerne getrennt, an der Oberfläche des Organismus gefunden und ist ausserdem oft zweilappig, als ob es aus der Vereinigung zweier gleichartigen Körperchen entstanden wäre (Tafel 12, Fig. 80—81).

Die Zahl dieser Formen war sehr schwankend; ich fand sie in grosser Zahl in allen Larven, welche an bestimmten Tieren gefüttert wurden, dagegen selten oder auch gar nicht bei solchen, deren Nahrung von anderen Tieren stammte. Ueber die Ursache des Auftretens dieses Organismus ist noch nichts bekannt, doch hoffe ich, dieselbe baldigst aufzuklären; jedenfalls ist die Häufigkeit hervorzuheben, mit welcher ich ihn bei den an seit langem infizierten *Callithrix*-Aeffchen gefütterten Larven gefunden habe, während bei andern, mit dem Blute von Meerschweinchen ernährten trotz lange dauernder Infektion und zahlreichen Parasiten im peripherischen Blute diese Formen nur sehr selten beobachtet wurden. Leider benutzte ich bei den diesbezüglichen Untersuchungen nur die trockene Fixation und Färbung nach GIEMSA, was einigermaßen die Schwierigkeit der Deutung der beobachteten Bilder erklärt.

Von Wichtigkeit sind auch die Schizogoniformen, welche ich in drei Versuchen, 140 bis 150 Stunden nach der Blutaufnahme, in teilweise verdautem Blute auffand, welches im vorderen Teile des Mitteldarmes enthalten war. Diese zeigen sich aus acht kleinen, nahezu eiförmigen Organismen gebildet, welche durch eine zentrale Plasmamasse zusammenhängen (Taf. 12, Fig. 89); in jedem derselben findet sich ein länglicher Kern und an einem seiner Enden ein intensiver gefärbtes Chromatinkörperchen vom Aussehen eines Blepharoplasten. Die einzelnen Individuen der Schizogoniform werden in demselben Materiale auch getrennt (Taf. 12, Fig. 90—97), bald einzeln, bald in Haufen, gefunden und lassen einen Hauptkern und Blepharoplasten deutlich erkennen; ersterer zeigt das Chromatin manchmal in langer Band-

principais) observámos flagelados com movimentos ativos semelhantes aos dos parasitos vistos no liquido da cavidade geral. Em «*frot-tis*» fixados a seco e córados pelo metodo de GIEMSA, observámos 2 fórmãs de aspetos bem distintos. Uma dellas apresenta-se como organismos compridos e delgados, tendo a cromatina nuclear disposta ainda em faixa longitudinal, ocupando mais ou menos $\frac{1}{4}$ do comprimento da celula; o blefaroplasto apresenta-se como um grande corpusculo cromático, óra situado atraz do nucleo e deste pouco distante (Est. 11, Fig. 74 e 75) óra colocado na extremidade posterior da celula (Est. 12, Fig. 76). Em algumas fórmãs não vimos flagelo nem membrana ondulante (Est. 12, Fig. 76) o que atribuimos a defeito de cóloração, porquanto em outras observações quazi todos os parasitos mostraram membrana ondulante, flajelo aderente e flajelo livre (Est. 11, Fig. 74 e 75).

A segunda fórmã observada era constituída por organismo largo, possuindo blefaroplasto muito menor que o da fórmã precedente e situado exatamente na extremidade posterior; um nucleo principal mais ou menos ovoide, com a cromatina de aspeto muito diverso do das fórmãs delgadas. Este organismo, nas nossas observações, era muito mais raro e não observámos correspondentes delle na cavidade geral (Est. 12, Fig. 77.)

As outras duas observações de flajelados nas glandulas salivares foram feitas em insetos colhidos nas habitações infetadas. Em tal cazo, a maior quantidade de hemipteros, embora apresentando flajelados no intestino posterior, nada mostram nas glandulas salivares; certo numero delles, porém, em relação centezimal não determinada, acha-se infetado e são infetantes, sendo vistos nas glandulas salivares os parasitos com a morfologia descrita. Esta observação, aliaz, é confirmada nas tentativas de infeção por picada de conorinos colhidos em residencias humanas, nas quais só pequena proporção de insetos é infetante.

form und manchmal zu einem eiförmigen Körper verdichtet. Der Blepharoplast ist bald an einem Ende des Nucleus gelegen und mit diesem verbunden (Taf. 12, Fig. 91), bald von diesem entfernt, getrennt oder durch einen Chromatinfaden verbunden (Taf. 12, Fig. 95-97). Es ist dies ein typisches Strukturbild der Trypanosomen, das in manchen Punkten demjenigen gleicht, welches man an den einzelnen Individuen der Schizogoniformen der Lunge und den jugendlichen Blutflagellaten beobachtet. Man kann nicht bezweifeln, dass diese Formen eine Phase der Entwicklung des Flagellaten im Insekto darstellen, wobei uns nur eine bessere Kenntniss der vorhergehenden und nachfolgenden Stadien fehlt. Unter dem Eindruck der Uebereinstimmung der chromatischen Bilder glaube ich, dass die Schizogoniformen die Teilung der erwähnten Formen darstellen, welche vielleicht Ookineten sind, die aus einer, nicht im Augenblicke des Bestehens beobachteten, Befruchtung hervorgehen.

Parasitäre Formen aus der Leibeshöhle des Insektes.

Ich habe zwei mal Flagellaten in der Leibeshöhle von Exemplaren von *Conorhinus* gesammelt, welche in infizierten Wohnungen gefunden waren. Sie hatten seit langer Zeit an keinem Wirbeltiere gesaugt und zeigten keine Spur von Blut im Chylusdarm, dagegen im Enddarm und in den Exkrémenten eine grosse Zahl von Crithidienformen.

Bei systematisch angestellten Beobachtungen gelang es mir bisher nicht, den Parasiten in der Leibeshöhle zu treffen; ich glaube daher, dass er sich daselbst nur ganz vorübergehend aufhält, indem er sehr bald in die Speicheldrüsen übertritt.

Die Organismen, welche bei den 2 Versuchen gefunden wurden, zeigen einen langen Chromatinstreifen im Kerne und einen grossen ovalen Blepharoplasten, der bald am Hinterende, bald von demselben entfernt liegt; sie besitzen eine freie Geissel und eine undulierende Membran und zeigen eine sehr ähnliche Bildung, wie die Formen, die in den Speicheldrüsen gefunden werden (Fig. 71—73, Taf. 11).

Cultura artificial do parasito.

O *Schizotrypanum cruzi* é facilmente cultivável em agar-sangue, segundo o método de NOVY e MAC NEAL. Procedemos do modo seguinte:

Sangrámos coelhos no coração, — processo melhor que o da sangria nas carótidas, podendo ser retirados, em cada sessão, até 40 c.c.³ de sangue, sem sacrificio do animal. — Misturámos partes iguais de sangue desfibrinado com agar fundido e mantido a 50°. Na agua de condensação, geralmente abundante, fizémos a sementeira.

Exames sistematicos mostram as primeiras modificações do flajelado, desde a sexta hora, sendo aqui, como no tubo digestivo do insecto, fenomenos iniciais a migração do nucleo blefaroplasto para as proximidades do nucleo principal, a perda da membrana ondulante e do flajelo e, por ultimo, o arredondamento do parasito (Est. 13, Fig. 23a-23b). Em seguida dá-se rapida multiplicação, de modo que, apoz 20 hórás, começam a aparecer na cultura novos organismos, de fórma ovoide ou esferica, resultantes da divizão dos flajelados semeados (Est. 12, Fig. 98—103 e Est. 13, Fig. 23).

Ha agóra predominancia, a principio, de pequenos organismos piriformes aflajelados (Est. 12 e Fig. 99-102) que mostram, quando córados pelo método de ROSENBUSCH, estrutura identica á das fórmas similares dos conorrinos (Est. 13, Fig. 23). Nos preparados pelo GIEMSA, nestes organismos, o nucleo principal é visto como grande massa de cromatina, tendo, num dos pontos da periferia, o blefaroplasto.

Os organismos esfericos, de dimensões variaveis, não oferecem tambem outras minucias de estrutura, além das descritas no insecto. Nos preparados pelo GIEMSA, além dos granulos de volutina, vêm-se frequentemente, no plasma, muitos vacuolos.

Os organismos esfericos e piriformes se apresentam em ajuntamentos, constituídos, ás vezes, de numerosos individuos, vendo-se entre elles muitos com os nucleos em divizão,

Parasitäre Formen in den Speicheldrüsen des Conorhinus.

Bei drei Versuchen fand ich in Ausstrichpräparaten von den Speicheldrüsen der *Conorhinus*wanzen Entwicklungsphasen des *Schizotrypanum cruzi*, die zweifellos die Form darstellen, welche auf Wirbeltiere übertragen wird. Der eine Befund wurde bei einem ausgewachsenen Conorhinus gemacht, welcher 12 Tage vorher ein Exemplar von *Callithrix* gestochen hatte. Dabei fand ich bei frischer Untersuchung des Materials der Hauptspeicheldrüsen Flagellaten, deren sehr lebhaftige Bewegungen an die Parasiten aus der Leibeshöhle erinnerten. In trocken fixierten und nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen beobachtete ich zweierlei Formen von sehr verschiedenem Aussehen: eine derselben erscheint als sehr langer und dünner Organismus, dessen Kernchromatin noch als langes Band angeordnet ist, welches ungefähr dem vierten Teile der Zelle entspricht; der Blepharoplast zeigt sich als grosses Chromatinkörperchen bald hinter dem Kerne und in dessen Nähe (Tafel 11, Fig. 74 und 75), bald am Hinterende der Zelle (Taf. 12, Fig. 76), bei einigen Formen fand ich weder Geissel noch undulierende Membran (Taf. 12, Fig. 76), was ich einer fehlerhaften Färbung zuschreibe, denn in anderen Beobachtungen zeigten fast alle Parasiten eine undulierende Membran und eine zum Teile adhärente, zum Teile freie Geissel (Taf. 11, Fig. 74 und 75).

Die zweite beobachtete Form bestand in einem breiten Organismus, dessen Blepharoplast viel kleiner war, als bei der vorigen Form, dabei genau am Hinterende gelagert; sie besitzt ferner einen nahezu eiförmigen Hauptkern, dessen Chromatin sich von demjenigen der Hauptform sehr unterscheidet. Dieser Organismus war in meinen Beobachtungen viel seltener; auch habe ich in der Leibeshöhle keine entsprechenden Formen gefunden.

Die anderen beiden Beobachtungen von Flagellaten aus Speicheldrüsen wurden bei Wanzen gemacht, welche in infizierten Wohnungen gefangen wurden. In diesem Falle

outros ligados entre si por filamentos de plasma, e, finalmente, organismos com nucleos e blefaroplastos multiplos.

Tornam-se depois flajelados estes organismos, atinjindo o estadio de critidias adultas. Nestas, como nas fórmulas anteriores, a estrutura celular é de todo identica á das fazes correspondentes no invertebrado, pelo que nos dispensamos de referil-a. E tambem aqui estamos procedendo a pesquisa sobre os processos de divizão dos nucleos, dos quais daremos, mais tarde, conhecimento.

Nas culturas antigas é frequente observarem-se fórmulas aberrantes de critidias, de grandes dimensões, com divizão multipla (Fig. 108 e 109 da Est. 12). As critidias adultas, simultaneamente com organismos piriformes e esfericos, permanecem longamente vivos nas culturas, até 2 mezes, sendo positivas, quazi sempre, as 2 primeiras sementeiras.

Nas culturas, portanto, o *Schizotrypanum cruzi* porta-se de modo identico áquelle estudado no tubo dijestivo do hemiptero, havendo perfeita semelhança em quazi todas as fazes das evoluções na cultura e no hospedeiro intermediario. Não encontrámos, porém, nas culturas artificiais, os organismos esfericos, cercados de pelicula condensada, nem as fórmulas de esquizogonia assinaladas no tubo dijestivo do inséto. Em compensação, duas culturas de sangue de saguí mostraram, no fim de 10 dias, fórmulas parasitarias que não haviamos observado ainda. Nestes, vimos flajelados com blefaroplasto colocado atraz do nucleo principal, achando-se este ultimo com a cromatina disposta em longa faixa lonjitudinal. E' um aspeto muito semelhante ao observado em parasitos adultos das glandulas salivares e tambem do sangue periferico.

Outra fórmula tambem encontrada só duas vezes nas culturas, apresentava-se ovoide, tendo nucleo unico com a cromatina disposta em dois lóbos. O aspeto desta fórmula, nos preparados, fixados secos e córados pelo GIEMSA, lembrava muito o ooquinetto do hemoproteo. Indecizas, porém, como se apresentam, estas fazes ultimas exigem maiores e

zeigte die Mehrzahl der Hemipteren zwar Flagellaten im Hinterdarm, aber keine in den Speicheldrüsen; ein unbestimmter, aber sehr kleiner (nur nach Hundertsteln zählender) Teil war gleichzeitig infiziert und infizierend, indem er in den Speicheldrüsen die beschriebenen Parasiten enthielt. Diese Beobachtung wird übrigens bestätigt durch die Versuche, mittelst des Stiches von in menschlichen Wohnungen gesammelten Conorhinen zu infizieren, wobei nur ein kleiner Teil dieser Wanzen sich infektiös erweist.

Künstliche Kultur des Parasiten.

Das *Schizotrypanum cruzi* lässt sich leicht nach NOVY und MAC NEAL auf Blutagar züchten. Bei meinen Kulturen verfare ich folgendermassen: Ich entnehme das Blut aus dem Herzen von Kaninchen, ein Prozess, der dem Durchschneiden der Karotiden vorzuziehen ist, da man, ohne das Tier zu opfern, in jeder Sitzung bis 40 ccm. Blut entnehmen kann. Ich mische gleiche Teile des defibrierten Blutes mit gleichen Teilen geschmolzenen, bei 50° aufbewarten Agars und übertrage auf das gewöhnlich reichliche Kondenswasser.

Systematische Untersuchungen zeigen die ersten Modifikationen der Flagellaten von der 6. Stunde an, wobei hier, wie im Darmkanale des Zwischenwirtes, die Anfangerscheinungen folgende sind: Wanderung des Blepharoplasten in die Nähe des Hauptkernes, Verlust der Geissel und undulierenden Membran, endlich die Abrundung des Parasiten (Taf. 13, Fig. 23 a — 23 b). Hierauf folgt eine rasche Vermehrung, sodass nach 20 Stunden in der Kultur neue Organismen erscheinen, welche aus der Teilung der eingesäten Flagellaten entstehen und eine runde und eiförmige Gestalt besitzen (Taf. 12, Fig. 98 — 103 und Taf. 13, Fig. 23).

Anfangs herrschen kleine, birnförmige, geissellose Organismen (Taf. 12, Fig. 99—102) vor, welche bei der Färbung nach ROSENBUSCH dieselbe Struktur zeigen, wie die entsprechenden Formen aus dem *Conorhinus*. In GIEMSA-Präparaten sieht man in diesen

mais metódicas pesquisas, pelo que deixamos de apresentar agora os desenhos e os dados sobre a estrutura dellas.

Transmissão da infecção pela picada do *Conorhinus* e por injeção dos flajelados do tubo digestivo e das culturas. Virulência variável do parasito. Evolução da infecção nos animais de laboratório.

Conforme referimos, o primeiro caso de infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* foi obtido num *Callithrix* picado por alguns conorrinos trazidos da zona contaminada. Os insetos estavam, havia mais de 8 dias, sem refeição em qualquer vertebrado, o que indica, já neste primeiro caso, a ausência de transmissão mecânica do parasito. Maiores ensinamentos, porém, oferecem as experiências seguintes, realizadas com larvas, nascidas no laboratório, como passamos a referir:

Quatro larvas, no 5.^o dia após a eclosão, picaram um *Callithrix* infetado desde 1 mês, com flajelados não muito abundantes no sangue periférico.

Duas destas larvas, 10 dias depois, picaram uma cobaia que morreu no 6.^o dia apresentando no pulmão grande número de formas de esquizogonia e no sangue periférico alguns parasitos intraglobulares. As 2 larvas restantes infetaram mais 2 cobaias, uma das larvas no 20.^o e a outra no 25.^o de infecção. Uma dessas cobaias morreu no 7.^o dia após a picada, com grande número de formas de esquizogonia no pulmão, sem flajelados, apreciáveis em exame rápido, no sangue periférico; a outra cobaia morreu no 12.^o dia, apresentando algumas formas de esquizogonia no pulmão e raros flajelados no sangue periférico.

Nova experiência, com 6 larvas, 3 dellas alimentadas em *Callithrix* com infecção antiga e 3 alimentadas em cobaia com numerosos parasitos no sangue periférico, deu o seguinte resultado: as 3 larvas, infetadas no *Callithrix*, picaram no 8.^o dia uma cobaia, que mostrou parasitos no sangue periférico 15 dias depois; as larvas alimentadas na co-

Formen den Hauptkern als grosse Chromatinmasse, welche an einem beliebigen Punkte der Peripherie den Blepharoplasten aufweist.

Auch die runden Formen von wechselnden Dimensionen zeigen nur die bei Insekten beschriebenen Strukturverhältnisse. In GIEMSA-Präparaten sieht man im Plasma ausser den Volutinkörperchen nicht selten zahlreiche Vakuolen.

Runde und birnförmige Formen zeigen sich in Anhäufungen, die oft von sehr zahlreichen Individuen gebildet sind, unter welchen viele Kernteilungen aufweisen, andere mehrfache Blepharoplasten und Kerne enthalten und wieder andere durch Plasmafäden gegenseitig verbunden sind.

Diese Organismen bilden dann eine Geißel und gehen in die erwachsene Crithidienform über, bei welcher, wie bei den vorigen, die Zellstruktur den entsprechenden Formen aus der Wanze entspricht, weshalb ich sie auch nicht beschreibe. Ich untersuche auch bei diesen den Kernteilungsprozess und werde darüber später berichten. In älteren Kulturen beobachtet man häufig abweichende Crithidienformen von grossen Dimensionen und in mehrfacher Teilung begriffen (Taf. 12, Fig. 108 u. 109). Kugel- und Birnformen bleiben neben den erwachsenen Crithidien in den Kulturen lange Zeit — bis zu 2 Monaten — am Leben und die beiden ersten Ueberimpfungen gehen fast immer gut an.

Das *Schizotrypanum cruzi* verhält sich demgemäss in den Kulturen ganz wie im Darmlumen der Wanze, sodass fast alle Entwicklungsphasen vollständig übereinstimmen. Doch fand ich in den künstlichen Kulturen weder die runden, von einer verdichteten Membran umgebenen Organismen, noch die im Darmkanal nachgewiesenen Schizogonienformen. Dagegen zeigten 2 Kulturen aus dem Blute des Pinseläffchens nach 10 Tagen parasitäre Formen, welche ich noch nicht beobachtet hatte. Hier sah ich Flagellaten mit hinter dem Hauptkerne liegenden Blepharoplasten, wobei der letztere das Chromatin zu einem langem Streifen angeordnet zeigte. Dieses Bild gleicht demjenigen des erwachsenen Parasiten aus dem peripheren Blute und den Speicheldrüsen.

baia picaram sem resultado novas cobaias no 8.º, no 14.º e no 20.º dias.

Grande numero de outras experiencias, com larvas nutridas em cobaias intensamente infetadas, foram negativas, não obstante apresentarem todas as larvas, com absoluta constancia, as fórmulas de criticidias que referimos no intestino médio. Tambem o exame do liquido da cavidade geral e as pesquisas das glandulas salivares destas larvas deram resultados negativos. Nas larvas cujas picadas foram contaminantes para cobaias não fizemos, devido ao intuito de apreciar o prazo maximo da condição infetante, pesquisas complementares nas glandulas salivares, perdendo as larvas sem ter tido esclarecimento importante que tais pesquisas poderiam trazer.

Temos diversas experiencias de infeção de cobaias por picada de conorrinos adultos; nestas, porém, devido á possibilidade de serem infetantes os inséto colhidos na zona contaminada, não se póde apreciar o tempo de evolução completa do parasito. Da relação centesimal de conorrinos infetantes, quando colhidos em habitações humanas, não temos por enquanto idéa exata; é certo, porém, que naquella relação influe especialmente a procedencia dos inséto. Tivemos coleções de conorrinos, da mesma procedencia, nas quais existiam muitos inséto infetantes; quando com outras coleções, de procedencia diversa, as tentativas de infeção foram todas negativas.

Podemos, das experiencias até agora realizadas, tirar as concluzões seguintes sobre a transmissão do *Schizotrypanum cruzi* pela picada do *Conorhinus*:

- 1.º Certa proporção, indeterminada, de conorrinos colhidos nas habitações de zona contaminada, é infetante para os vertebrados.
- 2.º As larvas creadas no laboratorio e alimentadas em animais contaminados, mesmo com numerosos parasitos no sangue periferico, nem sempre se tornam infetantes, apesar de apresentarem flajelados no intestino médio.
- 3.º As larvas que, em tal cazo, se tornam contaminantes, só o são, desde o 8.º ou 10.º

Eine zweite Form wurde gleichfalls zweimal in den Kulturen beobachtet; sie ist oval und zeigt einen einzelnen Kern, dessen Chromatin in 2 Lappen angeordnet ist. Die Form derselben erinnert in trocken fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten sehr an den Ookineten des *Hämoproteus*. Da sich jedoch diese letzten Formen nicht sehr deutlich erscheinen, sind noch mehr eingehende und methodische Untersuchungen nötig, weshalb ich jetzt keine Zeichnungen und nähere Angaben über ihre Struktur gebe.

Uebertragung der Infektion durch den Stich des *Conorhinus*, die Flagellaten aus dem Darmkanal und die Kulturformen.

Wie schon berichtet, wurde die erste Infektion durch *Schizotrypanum cruzi* bei einem Pinseläffchen beobachtet, an welchem aus infizierter Zone stammende Conorhinen gesogen hatten. Dieselben hatten seit mehr als 8 Tagen kein Blut aufgenommen, was bereits in diesem ersten Falle die mechanische Uebertragung des Parasiten ausschloss. Genauere Aufschlüsse erhielt ich aus den folgenden Versuchen mit Larven, die im Laboratorium ausgeschlüpft waren:

Fünf Tage nach dem Ausschlüpfen sogen 4 Larven an einer seit einem Monate infizierten *Callithrix* mit sehr zahlreichen Flagellaten im peripheren Blute. 10 Tage darauf stachen 2 dieser Larven ein Meerschweinchen; dasselbe starb am 6. Tage und zeigte in den Lungen zahlreiche Schizogonieförmungen und im peripherischen Blute einige intraglobuläre Parasiten. Die 2 übrigen Larven infizierten 2 Meerschweinchen, eine derselben am 20., die andere am 25. Tage nach der Infektion. Das eine Meerschweinchen starb 7 Tage nach den Stichen mit zahlreichen Schizogonieförmungen in den Lungen, während im peripherischen Blute eine nicht sehr eingehende Untersuchung keine Flagellaten nachwies; das andere Versuchstier starb am 12. Tage und zeigte in den Lungen einige Schizogonieförmungen nebst spärlichen Flagellaten im peripheren Blute.

Ein neuer Versuch wurde mit 6 Larven angestellt; davon hatten 3 an einer seit lan-

dia apoz a refeição de sangue infetado, conservando essa condição por espaço de tempo longo e ainda indeterminado.

4.º As picadas de larvas, 2 ou 3 dias depois de uma refeição em animal infetado, não contaminam os vertebrados.

Claro está que estas conclusões, embora baseadas em experiencias izentas de qualquer cauza de erro, não trazem ao assunto esclarecimento completo, sendo necessario aguardar o resultado das novas pesquisas a que procedemos atualmente.

Obtivémos, inoculando material do intestino médio de conorrinos adultos, colhidos em habitações humanas e sem prévia refeição contaminada no laboratorio, a infeção de diversas cobaias, as quais chegaram a apresentar, no sangue periferico, numerosos flajelados.

Com o material do intestino médio de larvas, infetadas no laboratorio, conseguimos tambem a infeção de diversas cobaias. Fizemos inoculações, neste cazo, depois de 6 dias da refeição contaminante, não tendo ainda experimentado antes daquelle prazo, o que devemos fazer ainda. Nas inoculações do material do intestino de larvas e de conorrinos adultos, tivemos alguns resultados negativos, sem que possamos por emquanto explicar a causa delles. Alias, ainda neste ponto, para maior segurança das conclusões, devemos voltar á novas pesquisas.

A inoculação de cultura não oferece conclusão diversa da inoculação do material do intestino médio; muitas vezes infetámos cobaias com inoculações de culturas, falhando porém, algumas das experiencias realizadas.

Variabilidade na virulencia do *Schizotrypanum cruzi*.

A virulencia do *Schizotrypanum cruzi* é influenciada por diversos fatores, cuja natureza e cujos efeitos não conhecemos ainda, de modo exato.

Passajens sucessivas do parasito, atravez de animais sensiveis atenuam, sem duvida, a virulencia delle; por outro lado, o parasito,

gem infizierten *Callithrix*, die anderen 3 an einem Meerschweinchen mit zahlreichen Parasiten im peripheren Blute gesogen. Das Resultat des Versuches war folgendes: die 3 am Affen infizierten Larven stachen am 8. Tage ein Meerschweinchen, welches 15 Tage später Parasiten im peripheren Blute zeigte; die Larven vom Meerschweinchen stachen am 8., 14. und 20. Tage andere Meerschweinchen mit negativem Resultate.

Noch viele andere Versuche mit Larven, die an stark infizierten Meerschweinchen gesogen hatten, blieben resultatlos, obwohl die Larven mit absoluter Sicherheit die erwähnten Crithidienformen im Mitteldarme aufwiesen. Ebenso blieben die Untersuchungen der Flüssigkeit aus der Leibeshöhle und die der Speicheldrüsen ohne Resultat. Dagegen machte ich keine Kontrollversuche an den Speicheldrüsen der Larven, deren Stich Meerschweinchen infiziert hatte, da ich dieselben zur Feststellung der längsten Dauer der Infektion gebrauchte; so verlor ich die Larven, ohne die wichtige Aufklärung zu erhalten, welche diese Versuche hätten geben können.

Ich machte auch verschiedene Infektionsversuche am Meerschweinchen, die ich von erwachsenen Conorhinen stechen lies; doch liess sich bei solchen die Entwicklungsdauer des Parasiten nicht feststellen, weil diese in infizierter Zone gesammelten Insekten schon infektiös sein konnten. Ueber den Prozentsatz der Infektiosität der in menschlichen Wohnungen gefangenen Conorhinen habe ich keinen richtigen Begriff, doch steht soviel fest, dass derselbe besonders von der Herkunft der Tiere abhängt. So fanden wir in einer Sendung von Conorhinen von einem Orte zahlreiche infektiöse Exemplare, während bei Sendungen von anderer Herkunft alle Infektionsversuche resultatlos blieben.

Aus den bisher angestellten Untersuchungen über die Uebertragung des *Schizotrypanum cruzi* durch den Stich des *Conorhinus* kann ich folgende Schlüsse ziehen:

1. Ein unbestimmter Prozentsatz von aus Wohnungen der infizierten Zone stammenden Conorhinen ist für Wirbeltiere infektiös.

atenuado, readquire a virulencia inicial, quando inoculado em outra especie animal. As infeções produzidas nas cobaias por picadas de conorrinos são, de regra, mais graves que as produzidas por inoculações de sangue contaminado. As primeiras matam o animal em espaço de tempo variavel, comumente de 5 a 10 dias, ao passo que as ultimas permitem a sobre-vida até de 2 mezes. E' frequente, nas infeções pelo *Conorhinus*, as cobaias morrerem ainda com auzencia de flajelados no sangue periferico, apresentando no pulmão grande numero de fórmulas esquizogonicas.

As reinoculações de sangue de cobaias, inicialmente infetadas pelo inséto, modificam consideravelmente, tanto a ação patojenica, quanto a atividade de multiplicação do parasito, de modo que, apoz certo numero de reinoculações, as infeções obtidas tornam-se menos intensas e a morte das cobaias mais demorada. Si, porém, inoculamos o parasito assim tratado num *Callithrix*, parece que elle readquire, em parte, a virulencia perdida.

Influe, ainda na intensidade da parazitoze, a via de introdução do flajelado, parecendo, de nossas experiencias, serem as inoculações intra-peritoneais as que produzem infeções maiores e mais rapidamente mortais.

Sobre este ponto merecem referencia especial nossas observações sobre o tripanozó-mida de proveniencia humana: Inoculámos, como dissémos, 2 cobaias e um *Callithrix*, com sangue da primeira doente, morrendo aquellas duas em poucos dias e sobrevivendo o *Callithrix* 2 mezes, vindo a morrer em estado de grande emagrecimento e de consideravel hipoglobulia. Inoculámos, com o sangue do *Callithrix*, 6 cobaias que mostraram, apoz 15 dias, parasitos no sangue periferico, morrendo todas dentro de 1 mez. Com sangue destas cobaias inoculámos novas, que só muito tarde, 20 ou 30 dias depois, apresentaram parasitos na periferia. Estas cobaias viveram mais de dois mezes, morrendo em varios periodos, quazi todas mostrando, na ocasião da morte, fórmulas esquizogonicas no pulmão. Houve, portanto, nesta série de experiencias uma primeira atenuação de virulencia pela passagem no *Callithrix*, visto como

2. Im Laboratorium aufgezogene, an infizierten Tieren mit zahlreichen Parasiten im peripheren Blute gefütterte, *Conorhinus*-Larven zeigen sich nicht immer infektiös, obwohl sie Flagellaten im Mitteldarme beherbergen.
3. Die Larven, welche unter solchen Verhältnissen sich infektiös erweisen, tun es erst am 8. bis 10. Tage nach der Aufnahme des infizierten Blutes, behalten aber diese Eigenschaft während eines langen Zeitraumes, dessen Grenzen noch nicht bestimmt sind.
4. 2 bis 3 Tage nach Aufnahme des infizierten Blutes sind die Stiche der Larven nicht infektiös für Wirbeltiere.

Obwohl die Schlüsse auf von Fehlerquellen reinen Versuchen beruhen, können sie doch natürlicherweise die Frage nicht vollständig aufklären; deswegen muss das Resultat neuer Versuche, mit denen wir zur Zeit beschäftigt sind, abgewartet werden.

Durch Einspritzung des Mitteldarminhaltes erwachsener, aus menschlichen Wohnungen stammender *Conorhinus*, die im Laboratorium kein infiziertes Blut aufgenommen hatten, erhielt ich eine Infektion bei verschiedenen Meerschweinchen, welche später im Blute zahlreiche Flagellaten aufwiesen. Auch mit Material aus dem Mitteldarm von — im Laboratorium infizierten — Larven, bewirkte ich eine Infektion bei verschiedenen Meerschweinchen. Dabei stammte das Infektionsmaterial aus der Zeit nach dem 6. Tage der Infektion; Versuche vor dieser Zeit wurden nicht angestellt, sollen aber noch gemacht werden. Bei der Uebertragung von Material aus dem Darne von Larven und erwachsenen Exemplaren dieser Wanzen erhielten wir einige negative Resultate, ohne zur Zeit die Ursache derselben erklären zu können. Uebrigens werden wir auch hierüber zu grösserer Sicherheit in unseren Schlüssen weitere Untersuchungen anstellen.

Die Uebertragung von Kulturen gestattet keine anderen Schlüsse, als die Einspritzung von Material aus dem Mitteldarme; manchmal infizierte ich Meerschweinchen mit Einsprit-

o parasito humano, que a principio matou cobaias em 5 dias, só o fez depois em 1 mez ou pouco menos. Segunda e mais intensa atenuação sofreu o virus no organismo das cobaias, conforme o resultado das reinoculações, que só mataram os animais depois do 2.º mez.

A grande virulencia do parasito humano para as cobaias revelou-se outra vez na inoculação de sangue do doente JOSE, em dois destes animais, que morreram dentro de poucos dias e na terceira experiencia, na qual obtivemos a infeção de uma cobaia (que permaneceu viva mais de um mez) a quantidade de sangue inoculado foi de menos de $\frac{1}{2}$ cc., quando nos 2 primeiros cazos injetámos no peritoneo das cobaias, de 1 a 2 ccm.

Convém assinalar aqui a intensidade diversa da infeção dos doentes, o que impossibilita tirar destes resultados, a respeito da virulencia do parasito, conclusões definitivas. De fato no primeiro doente havia flajelados no sangue periferico, apreciaveis mesmo em exame rapido, ao passo que nos outros só a inoculação de animais sensiveis póde revelar a existencia da infeção.

Evolução da molestia na cobaia e no *Callithrix*.

A evolução da esquizotripanozomiase nos animais de experiencia depende, sobretudo, da proveniencia do parasito. Póde ser estabelecida como regra, a morte rapida dos animais, ás vezes com flajelados raros ou sem elles no sangue periferico, quando infetados pelo *Conorhinus*. Nas inoculações sucessivas, porém, na mesma especie animal, a sobrevivida póde ser longa, atinjindo 2 mezes e mais na cobaia e no *Callithrix*. Ha, nestes cazos, periodos de maior abundancia de parasitos no sangue periferico. Em alguns animais observámos desaparecimento rapido dos flajelados da periferia, lembrando as crises verificadas em algumas espiroquetozes. Outra observação, muitas vezes repetidas, é a da morte dos animais em periodo de ativa esquizogonia do parasito. As cobaias apresentam, nestas condições, os capilares do pul-

zung von Kulturen, während wieder andere Versuche resultatlos blieben.

Schwankungen in der Virulenz von *Schizotrypanum cruzi*.

Die Virulenz von *Schizotrypanum cruzi* steht unter dem Einflusse verschiedener Faktoren, deren Natur und Wirkungen noch nicht genau bekannt sind. Wiederholte Passagen durch empfindliche Tiere schwächen die Virulenz in deutlicher Weise ab; andererseits nimmt der Parasit nach der Abschwächung die ursprüngliche Virulenz wieder an, wenn er auf eine andere Tierart übertragen wird. Die Infektionen, welche bei Meerschweinchen durch die Stiche von Conorhinen erzeugt werden, sind in der Regel schwerer, als diejenigen, die durch Einführung infektiösen Blutes entstehen. Erstere töten die Tiere nach einem wechselnden Zeitraum von gewöhnlich 5 bis 10 Tagen, während letztere ein Ueberleben bis zu 2 Monaten gestatten. Bei Infektion durch Conorhinen sterben die Meerschweinchen nicht selten schon, wenn noch keine Flagellaten im peripheren Blute vorkommen, während in den Lungen zahlreiche Schizogoniformen zu finden sind.

Die Ueberimpfung des Blutes von ursprünglich durch den Stich von Conorhinen infizierten Meerschweinchen bewirkt eine beträchtliche Aenderung in Beziehung auf die Vermehrungsenergie der Parasiten, so dass nach einer gewissen Zahl von Passagen die erzeugten Infektionen weniger intensiv werden und der Tod der Meerschweinchen sich verzögert. Uebertragen wir jedoch den so behandelten Parasiten auf eine *Callithrix*, so scheint er die verlorene Virulenz teilweise wieder zu gewinnen.

Auch der Ort der Einimpfung beeinflusst die Intensität des parasitären Prozesses; nach meinen Experimenten scheinen intraperitoneale Einspritzungen die stärksten und am schnellsten tödtlichen Infektionen hervorzurufen.

Hier verdienen die Versuche mit Trypanosomen menschlicher Herkunft besonders Erwähnung; wie berichtet, infizierte ich mit

mão repletos de fôrmas esquizogonicas, coincidindo o fato com diminuição e ás vezes desaparecimento dos flajelados do sangue periferico.

Entre os sintomas que se observam nos animais de experiencia, além de elevação termica, grande emagrecimento e hipoglobulia, devemos referir o enfartamento ganglionar generalizado, em alguns cazos muito consideravel, e afeções oculares. Esta é muito frequente no *Callithrix* e não raro determina a perda completa da visão. Finalmente, registrámos a observação frequente da morte dos animais em convulsão.

Considerações gerais.

I. SISTEMÁTICA.

A existencia de relações filojeneticas, muito estreitas, entre os tripanozomos e os parasitos hemáticos intra-globulares, foi primeiro revelada, em 1904, pelas memoraveis pesquisas de SCHAUDINN sobre o ciclo evolutivo do *Haemoproteus noctuae* e do *Leucocytozoon ziemanni*. Nellas o grande pesquisador demonstrou, no organismo do vertebrado, para o *Haemoproteus*, a alternancia de fazes de repouzo intraglobulares, aflajeladas, com a de flajelados livres no plasma. No *Culex pipiens*, de uma fecundação oogamica entre elementos sexuosos tipicamente halteridicos, resultaria um ooquineto, cuja evolução conduziria a parasitos flajelados. No *Leucozytozoon ziemanni* o ooquineto daria logar, por divizão multipla, á formação de organismos espiroquetiformes, com morfologia de todo ponto identica á dos tripanozomos tipicos.

Inumeras vezes contestadas, sem que, entretanto, a auzencia de verdade nella tenha sido até agóra demonstrada, de modo seguro, as observações de SCHAUDINN patentearam o estreito parentesco entre os tripanozomos e o grupo de protozoarios hemáticos, até então autonomo e que parecia bem delimitado, dos denominados hemosporidios.

O fundo de verdade daquellas observações veiu, bem depressa, revelar-se em outras pesquisas, nas quais protozoarios intracelu-

dem Blute der ersten Patienten zwei Meerschweinchen und eine *Callithrix*, wobei erstere nach wenigen Tagen starben, während der Affe noch zwei Monate lebte und im Zustande grosser Abmagerung und bedeutender Hypoglobulie zu Grunde ging. Mit dem Blute der *Callithrix* impfte ich sechs Meerschweinchen, welche nach 15 Tagen im peripheren Blute Parasiten aufwiesen und innerhalb eines Monates starben. Mit dem Blute dieser Meerschweinchen impfte ich andere, welche die Parasiten erst viel später — 20 bis 30 Tage nachher — im peripheren Blute zeigten. Sie lebten mehr als zwei Monate und starben nach verschiedener Zeit, wobei fast alle Schizogonieförmigen in den Lungen aufwiesen. Bei dieser Versuchsreihe beobachtete man also eine primäre Virulenzverminderung nach der Passage durch die *Callithrix*, indem der vom Menschen stammende Parasit, der ursprünglich Meerschweinchen in 5 Tage tötete, dies nun erst nach einem Monate oder nur wenig früher tat. Eine zweite, noch intensivere Abschwächung erlitt das Virus im Organismus der Meerschweinchen, wie der Erfolg der Weiterimpfungen zeigt, welche den Tod der Tiere erst nach mehr wie 2 Monaten zur Folge hatten.

Die grosse Virulenz des menschlichen Parasiten für Meerschweinchen zeigte sich wieder bei der Uebertragung des Blutes von dem Patienten JOSE auf zwei dieser Tiere, welche nach wenigen Tagen starben. Bei einem dritten Versuche, in welchem ein Meerschweinchen infiziert wurde und mehr wie einen Monat am Leben blieb, war die Menge des übertragenen Blutes weniger als $\frac{1}{2}$ cc, während ich von den beiden ersten Kranken je 1 bis 2 cc. in die Bauchhöhle der Meerschweinchen einspritzte.

Es muss hier die verschiedene Intensität der Infektion bei den einzelnen Patienten betont werden, welche es unmöglich macht, aus diesen Resultaten endgültige Schlüsse auf die Virulenz der Parasiten zu ziehen. So waren bei den ersten Patienten schon bei flüchtiger Untersuchung Parasiten im peripheren Blute nachzuweisen, während bei den anderen die Infektion nur durch Einimpfung empfindlicher Tiere nachgewiesen werden konnte.

lares aflajelados mostraram, nas culturas artificiais, fôrmas flajeladas com aspeto morfológico das critídias. Assim MYAJIMA obteve, nas culturas de piroplasma, fôrmas de flajelados que o pesquisador supõe serem fazes evolutivas daquelle parázito. O mesmo resulta das pesquisas de ROGERS e CH. NICOLLE, com a *Leishmania*, que daria, nas culturas, fôrmas flajeladas bem características.

Por outro lado, os metodos modernos de citologia dos protozoarios vieram ainda, *maxime* nos trabalhos de HARTMANN e PROWAZEK, revelar um outro carater comum aos dois grupos de parázitos, hemosporídios e tripanozómidas. Referimo-nos a dualidade nuclear, bem nitida nos generos *Trypanosoma*, *Crithidia* e *Herpetomonas*, sendo aí o segundo nucleo, o locomotor, representado pelo blefaroplasto.

Nos hemosporídios, algumas vezes, aspeto morfológico analogo ao dos tripanozomos é encontrado numa fase qualquer do ciclo evolutivo, conforme verificaram SCHAUDINN, nos merozoitos e esporozoitos da malária, e HARTMANN, naquelles e no microgámeta do proteozoma.

Quando assim não é, na auzencia de qualquer aparelho flajelar, não raro é possível verificar a dualidade de nucleos, mesmo em fôrmas de repouzo intraglobulares. E' o que acontece nas hemogregarineas (V. PROWAZEK) no esporozoito da malária (ED. e ET. SERGENT), na *Lankesterella ranarum* (FRANÇA, BILLET e BRUMPT) no *Halteridium* (HARTMANN e WOODCOCK), no *Piroplasma bigeminum* etc. Ainda assim a autonomia e a delimitação dos hemosporídios, delles com os flajelados incluídos na antiga familia de tripanozomidas, parecia ter baze solida em condições biológicas características, como fossem a multiplicação por meio de fôrmas esquizogónicas regulares e a constancia do parazitismo intra-celular. Estas duas condições, aliaz, acham-se ligadas por uma relação de dependencia, sendo a multiplicação esquizogónica, provavelmente, consequencia do parazitismo intra-celular (HARTMANN). Nem faltam aqui, no processo de multiplicação, fôrmas de aproximação entre os tripanozó-

Verlauf der Krankheit bei Meerschweinchen und *Callithrix*.

Der Verlauf der Infektion mit *Schizotrypanum cruzi* bei Versuchstieren hängt besonders von der Herkunft des Parasiten ab. Als Regel gilt der rasche Tod der Tiere — nicht selten mit wenigen oder ganz fehlenden Parasiten im peripherischen Blute — bei der Infektion durch Conorhinen. Bei derselben Tierart kann jedoch bei späteren Uebertragungen das Leben länger erhalten bleiben und zwar bis zu 2 Monaten und länger bei Meerschweinchen und *Callithrix*. In solchen Fällen gibt es Perioden, in welchen die Parasiten im peripheren Blute zahlreicher erscheinen. Bei einigen Tieren beobachtete ich rasches Verschwinden der Parasiten von der Peripherie, was an die Krisen erinnert, welche bei Spirochätosen beobachtet werden. Eine andere, häufig wiederholte, Beobachtung betrifft den Tod der Tiere in einer Periode aktiver Schizogonie des Parasiten. Die Meerschweinchen zeigen in diesem Falle die Lungenkapillaren voll von Schizogonieförmigen, während gleichzeitig die Flagellaten im peripheren Blute abnehmen oder ganz fehlen.

Von Krankheitssymptomen, welche bei Versuchstieren beobachtet werden, müssen — neben Temperatursteigerungen, starker Abmagerung und Hypoglobulie — allgemeine, manchmal sehr beträchtliche Lymphdrüsenanschwellungen und Augenaffektionen, besonders Keratitis hervorgehoben werden. Letztere ist bei der *Callithrix* besonders häufig und bedingt nicht selten vollständigen Verlust des Sehvermögens. Endlich erwähne ich den häufig beobachteten Tod des Tieres unter Konvulsionen.

Allgemeine Betrachtungen.

1. KLASSIFIKATION.

Das Bestehen engerer phylogenetischer Beziehungen zwischen den Trypanosomen und den intraglobulären Blutparasiten wurde zuerst 1904 durch die denkwürdigen Forschungen aufgedeckt, welche SCHAUDINN über den Entwicklungszyklus des *Haemoproteus noctuae* und *Leukocytozoon Ziemanni* machte. In diesen

midas e os hemosporídios. Assim temos como aperfeiçoamento a cizão binária do *Trypanosoma brucei* e de outras espécies, a cizão múltipla do *Trypanosoma lewisi*, nos órgãos internos com aspeto de rozaceas, cujas unidades são em numero variavel; e tambem no *Trypanosoma rotatorium*, no sangue periferico, a divizão em 4 ou mais unidades, realizada em organismos arredondados (observação inédita no Instituto de Manguinhos).

Nos hemosporídios, a ausencia de aparelho flajelar, que muitas vezes tem representação parcial no blefaroplasto, significa na opinião de HARTMANN, um fenomeno de redução, dependente da vida intracelular do parasito. Nesse ponto o *Haemoproteus*, pela alternancia de fazes intraglobulares com blefaroplasto e ausencia de flajelo e de fórmulas flajeladas no plasma, representa transição, bem caracteristica, entre os tripanozomos e os hemosporídios.

Estes fatos e outros que não referimos, interpretados em demoradas considerações (*Archiv. für Protistenkunde*, 1908) levaram HARTMANN a modificar a classificação de protozoarios, introduzindo na sub-classe de flejelados a nova ordem de *Binucleata*. Nesta ficam incluidos em diversas familias, os parasitos hemáticos que anteriormente formaram o grande grupo dos hemosporídios e os flajelados que, antigamente, formavam a familia dos tripanozomos.

O parasito que estudamos vem trazer a essa modificação da sistemática apoio inabalavel, visto representar, entre os tripanozomos típicos e os protozoarios incluidos no genero *Plasmodium*, fórmula intermediária bem caracterizada. Nelle, realmente existem condições biológicas, alternantes nas diversas fazes do ciclo, pertencentes aos 2 grupos de parasitos. Ao em vez da cizão binária, encontrada na maioria de tripanozomos ou da divizão múltipla irregular do *Trypanosoma lewisi* temos aqui multiplicação por esquizogonia típica e constante, sempre constituída do mesmo numero de individuos. Este processo mais aperfeiçoado de multiplicação se relaciona com a fase intracelular do parasito.

zeigte der hervorragende Forscher für *Haemoproteus*, dass im Organismus der Wirbeltiere ein Wechsel von intraglobulären, geissellosen Ruheformen mit frei im Plasma lebenden Flagellaten besteht. Aus einer oogamen Befruchtung von Geschlechtselementen mit typischen Halteridienformen entsteht im *Culex pipiens* ein Ookinet, dessen weitere Entwicklung zu geiseltragenden Parasiten führt. Bei *Leucocytozoon Ziemanni* erzeugte der Ookinet durch multiple Teilung Organismen von Spirochätenform mit einer derjenigen von typischen Trypanosomen vollständig gleichen Morphologie.

Sehr häufig bestritten, ohne dass ihre Unrichtigkeit bisher bestimmt erwiesen wäre, zeigten die Beobachtungen von SCHAUDINN die enge Verwandtschaft zwischen den Trypanosomen und der Gruppe von Protozoen des Blutes, die bisher als, scheinbar gut umschriebene, selbständige Gruppe unter den Namen *Haemosporidien* vereinigt wurden.

Das tatsächlich Richtige in diesen Beobachtungen wurde bald durch andere Forschungen erwiesen, nach welchen intracelluläre, geissellose Protozoen in künstlichen Kulturen geiseltragende Entwicklungsstadien von *Leptomonas*-Form zeigten. So erhielt MIAJIMA in Kulturen von Piroplasmen Flagellatenformen, welche dieser Forscher für Entwicklungsstadien des Parasiten hielt. Ebenso ergibt sich aus den Untersuchungen von ROGERS, LEISHMAN und Ch. NICOLLE über *Leishmania* das Auftreten von gut charakterisierten geiseltragenden Formen.

Auf anderer Seite erwiesen die neuen cytologischen Methoden, besonders in den Arbeiten von HARTMANN und V. PROWAZEK, ein neues Charakteristikum, welches beiden Parasitengruppen, den *Haemosporidien* und *Trypanosomiden* gemein ist.

Es ist dies die Zweizahl der Kerne, welche deutlich bei den Gattungen *Trypanosoma*, *Crithidia*, *Leptomonas* und *Herpetomonas* hervortritt, bei welchen der zweite lokomotorische Kern durch den Blepharoplasten vertreten ist.

Bei den Haemosporidien finden sich manchmal denjenigen von Trypanosomen analoge Bildungen in irgend einer Phase des Entwicklungskreises, wie SCHAUDINN bei dem Mero-

Na evolução no sangue apresenta o parasito uma primeira fase intraglobular, na qual os organismos iniciais, aflajelados, ~~que~~ óra, mostram nucleo unico, achando-se nestes o blefaroplasto incorporado ao nucleo principal, óra são vistos já com dualismo nuclear. A' fase intraglobular, na qual tem lugar, de regra, a formação do aparelho flajelar completo, segue-se outra de flajelados livres no plasma, na qual a morfologia do parasito é inteiramente semelhante á dos tripanozomos. Em rezumo: processo de multiplicação por esquizogonia e parasitismo intracelular, de um lado, do outro, vida livre no plasma, com organização estrutural analoga á de qualquer especie do genero tripanozomo, constituem dois aspetos biologicos, reunidos no mesmo parasito, que caracterizam grupos de protozoarios distanciados nas classificações anteriores — hemosporidios e tripanozomos, reunidos agóra na mesma ordem dos *Binucleata*, pela sistemática de HARTMANN.

Julgámos ainda que o processo de multiplicação por esquizogonia, com ausencia de divizão longitudinal binaria, aliado á fase intraglobular, deve determinar a criação de um novo genero, na familia *Trypanosomidae*, porquanto nenhum tripanozomo conhecido apresenta, reunidos, aquellas condições biologicas. Além de que, as grandes dimensões do blefaroplasto deste flajelado, constituem característica morfologia que bem o distancia das especies conhecidas.

MESNIL e BRIMONT, para um parasito intraglobular do *Cholopus didactylus*, crearam o genero *Endotrypanum*, em virtude do aspeto morfologico, proximo do dos tripanozomos e da vida intracelular. Não surpreenderam qualquer fórma livre do parasito e nem conhecem outra fase de evolução. Não seria aceitavel, só pela condição de vida intraglobular comum, colocar nosso flajelado nesse genero, porquanto d'elle conhecemos características biologicas que mais autorizam a criação de genero novo. E só na hipoteze de ser verificado, para o parasito de MESNIL, uma fase flajelada livre no plasma e a multiplicação esquizogonica, deverá o genero *En-*

und Sporozoiten der Malaria und HARTMANN bei denselben und den Microgameten von *Proteosoma* feststellte. Selbst beim Fehlen jedes Geisselapparates lassen sich, nicht selten sogar bei intraglobulären Ruhezuständen, doppelte Kerne erkennen. Dies geschieht bei den Haemogregarinen (v. PROWAZEK), bei den Sporozoiten der Malaria (ED. und ET. SERGENT), bei *Lankesterella ranarum* (FRANÇA, BILLET und BRUMPT), bei *Halteridium* (BERLINER und WOODCOCK), bei *Piroplasma bigeminum* (BREINL) u. s. w. Trotzdem schien die Autonomie der Haemosporidien und ihre Abgrenzung von den zur früheren Familie der Trypanosomen gehörigen Flagellaten in biologischen Charakteren festbegründet; es sind dies die Vermehrung durch regelmässige Schizogonie und der beständige intracelluläre Parasitismus. Diese Charaktere stehen übrigens nach HARTMANN in einem Abhängigkeitsverhältniss, indem die Vermehrung durch Schizogonie wahrscheinlich eine Folge des Zellparasitismus ist. Es finden sich aber auch bei dieser Vermehrungsweise Annäherungen zwischen Trypanosomiden und Haemosporidien. So haben wir als eine Weiterführung der Zweiteilung des *Trypanosoma brucei* und anderer Arten die multiple Teilung des *Trypanosoma lewisi* in den inneren Organen, in Form von Rosetten, deren Individuenzahl wechselt, ebenso bei *Trypanosoma rotatorium* im peripherischen Blute einen Zerfall in vier oder mehr Individuen nach Abrundung des Organismus (unveröffentlichte Beobachtung aus dem Institute von Manguinhos).

Bei den Haemosporidien bedeutet die Abwesenheit eines Geisselapparates, der häufig durch den Blepharoplasten teilweise repräsentiert wird, nach der Ansicht von HARTMANN ein Reduktionsphänomen als Folge der intracellulären Lebensweise der Parasiten. In dieser Hinsicht bildet *Haemoproteus* durch den Wechsel intraglobulärer Phasen (mit Blepharoplast, aber ohne Geissel) und geisseltragender Plasmaformen einen ausgesprochenen Uebergang von *Trypanosomen* zu *Haemosporidien*.

Diese und andere, hier nicht aufgeführte Tatsachen, welche er im Archiv für Protisten-

dotrypanum ser preferido ao que adotamos para nosso parasito.

O *Endotrypanum Schaudinni* binucleado intraglobular, é, com muita lojica, considerado pelos autores como fórmula intermediaria entre os tripanozomos e os hemosporidios, constituindo tambem pela morfologia e pelo parasitismo intracelular, um poderoso argumento em favor das idéas de SCHAUDINN sobre as estreitas relações filogeneticas entre os tripanozomos e o antigo grupo de hemosporidios.

II. DIMORFISMO SEXUAL.

A existencia nos tripanozomos, de diferenciações morfolojicas, ligadas á dualidade sexual, permanece ainda, apesar de numerosas pesquisas sobre o assunto, objeto de opiniões diverjentes. Foram os trabalhos de SCHAUDINN, que despertaram a atenção dos pesquisadores para a existencia de diferenças sexuais, no inicio do ciclo evolutivo destes flajelados no organismo do inséto transmissor. No halteridio, porém, o diferente aspeto morfolojico dos gametos, sexualmente bem caracterizados, não oferece margem á discussão.

Nos tripanozomos, quem primeiro registrou a dualidade de sexos foi V. PROWAZEK no *Trypanosoma lewisi*. Aqui, no estomago do *Haematopinus spinulosus*, a morfologia do flajelado sofre modificações notaveis, que mais acentuam o diformismo do parasito, já existente no sangue do rato, e que corresponde á dualidade de sexos. V. PROWAZEK admite 2 sexos, considerando ainda duvidosa a existencia das fórmulas indiferentes. MINCHIN, em longas pesquisas sobre o *Trypanosoma gambiense*, tambem conclue pela existencia de dois aspetos morfolojicos do tripanozomo no sangue do vertebrado, verificando ainda a permanencia desse dimorfismo, na fase inicial da evolução no tubo dijestivo da *Glossina palpalis*.

Diverjentes são as conclusões de BREINL e MOORE em diversas especies de tripanozomos: *gambiense*, *equiperdum*, *lewisi*. Para esses autores, si algum fenomeno de fecundação ocorre nos tripanozomos, consistiria elle em uma ação do blefaroplasto sobre o nucleo

kunde (1908) eingehend auseinandersetzte, bewogen HARTMANN, die Klassifikation der Protozoen abzuändern, indem er in die Unterklasse der Flagellaten die neue Ordnung der *Binucleaten* einreichte. Diese umfasst in verschiedenen Familien die Blutparasiten, welche früher die grosse Gruppe der *Haemosporidien* bildeten, nebst den Flagellaten, welche früher in die Familie der *Trypanosomen* gestellt wurden.

Der hier studierte Parasit bringt für diese Modifikation der Systematik eine feste Stütze, indem er eine deutliche Uebergangsform zwischen den typischen *Trypanosomen* und dem Genus *Plasmodium* bildet. In der Tat finden sich hier in den verschiedenen Entwicklungsphasen abwechselnd biologische Zustände, welche beiden Parasitengruppen angehören. An Stelle der Zweiteilung, wie sie bei der Mehrzahl der *Trypanosomen* vorkommt und der unregelmässigen multiplen Teilung des *Trypanosoma lewisi* haben wir hier eine Vermehrung durch typische und konstante Schizogonie, bei welcher stets eine bestimmte Zahl gleichartiger Individuen gebildet wird. Diese höchste Vervollkommnung des Vermehrungsprozesses steht in Beziehung zu einer intracellulären Phase der Parasiten. Bei seiner Entwicklung im Blute zeigt derselbe zuerst eine intraglobuläre Phase von geissellosen Organismen, welche bald einen einzigen den Blepharoplast einschliessenden Kern zeigen, bald einen doppelten Kern aufweisen. Auf eine intraglobuläre Phase mit — gewöhnlich vollständigem — Geisselapparat folgt eine andere im Plasma, welche morphologisch völlig den *Trypanosomen* gleicht. Es bilden also auf einer Seite Vermehrung durch Schizogonie und intracellulären Parasitismus, auf der anderen freies Leben im Plasma mit einer Struktur, welche einer beliebigen Art des Genus *Trypanosoma* entspricht, bei einem und demselben Parasiten zwei biologische Erscheinungsformen, welche sonst für zwei Protozoengruppen (*Haemosporidien* und *Trypanosomen*) charakteristisch sind; diese, in früheren Klassifikationen getrennt, werden jetzt durch die Einteilung von HARTMANN in derselben Ordnung der *Binucleaten* vereinigt.

principal, realizada pela imigração de parte da substancia do primeiro para o interior do segundo. Este fenomeno representaria fato capital do ciclo do parasito no organismo do vertebrado.

BREINL e MOORE consideram a diversidade morfolojica dos tripanozomos no sangue como exprimindo estadios consecutivos de crescimento do flajelado, não encontrando, em qualquer das especies que estudaram, indicação alguma para a teoria do dimorfismo sexual.

Veamos o que rezulta de nossas observações:

O dualismo morfolojico do *Schizotrypanum cruzi* apresenta-se muito nitido em todas as fazes do ciclo, tanto no vertebrado como no inséto transmissor. São diferenças fundamentais de estrutura, especialmente acentuadas nos aspetos da cromatina do nucleo principal e do blefaroplasto, sendo inaceitavel querer fazel-as dependentes do crescimento, quando presentes em dois organismos no mesmo estadio evolutivo. Assim é que nos merozoitos das fórmias esquizogonicas do pulmão, um dos organismos, que devemos considerar merozoito femeo mostra, desde logo, o blefaroplasto distinto do nucleo principal e neste o cariozoma muito menor que nos organismos considerados machos, nos quais, neste estadio, a substancia do blefaroplasto ainda se acha confundida com a do nucleo principal.

Nas fórmias intraglobulares e nos flajelados livres no plasma o mesmo diformismo se evidencia, espressando-se, como descrevemos, não só nas dimensões do plasma, caracter secundario, mas ainda na estrutura do blefaroplasto, que num dos cazos é munido de pequeno cariozoma esferico e no outro possui cariozoma maior, ovoide quazi sempre, transversalmente colocado. Na estrutura do nucleo existe a mesma dualidade de aspeto, sendo de registrar a menor quantidade de substancia cromatica na fórmula que consideramos femea. Os organismos jovens, cujos nucleos se apresentam com a cromatina disposta em longa faixa lonjitudinal, bem caracterizam esse diformismo.

Ich bin, wie schon eingangs erwähnt, der Ansicht, dass die Vermehrung durch Schizogonie, bei Fehlen einer einfachen Längsteilung, in Verbindung mit der intraglobulären Entwicklungsphase die Aufstellung eines neuen Genus in der Familie *Trypanosomidae* nötig macht, da kein bekanntes *Trypanosoma* die Vereinigung dieser beiden Zustände aufweist. Ausserdem liegt in den grossen Dimensionen des Blepharoplastes dieses Flagellaten ein morphologisches Kennzeichen, welches ihn von den früher bekannten Arten trennt.

MESNIL und BRIMONT bildeten für einen intraglobulären Parasiten des *Coloepus didactylus* ein neues Genus *Endotrypanum*, auf Grund der morphologischen Aehnlichkeit mit den Trypanosomen und der intracellulären Lebensweise. Sie trafen keine freie Form des Parasiten und kennen auch keinen anderen Entwicklungszustand. Es geht vorläufig nicht an — nur wegen des gemeinsamen Kennzeichens des intraglobulären Vorkommens — unseren Flagellaten jenem Genus einzureihen, da von demselben biologische Charaktere bekannt sind, welche die Aufstellung einer neuen Gattung begründen. Nur im Falle, dass beim MESNIL'schen Parasiten eine freie geisseltragende Blutform und eine Vermehrung durch Schizogonie nachgewiesen würden, müsste das Genus *Endotrypanum* dem von mir gewählten *Schizotrypanum* vorgezogen werden.

Das *Endotrypanum schaudinni* wird als intraglobulärer *Binucleate* mit vollem Recht von den Autoren als eine Uebergangsform von *Trypanosoma* zu den *Haemosporidien* angesehen; durch seine Morphologie und seinen intracellulären Parasitismus bildet es ebenfalls einen wichtigen Beweis zu Gunsten der Ideen von SCHAUDINN über die engen phylogenetischen Beziehungen zwischen den *Trypanosomen* und der bisherigen Gruppe der *Haemosporidien*.

2. SEXUELLER DIMORPHISMUS.

Trotz mannigfacher Untersuchungen über diese Frage bildet das Vorkommen verschiedener Trypanosomenformen als Ausdruck einer sexuellen Dualität noch immer den Gegenstand divergierender Ansichten. Durch die

No organismo do *Conorhinus* a dualidade morfológica mais notável é encontrada nas 2 formas das glândulas salivares, sendo uma delas estreita, munida de grande blefaroplasto e apresentando núcleo longo, disposto segundo o eixo longitudinal do parasito; a outra, de plasma mais largo, mostra menor blefaroplasto na extremidade posterior.

Não podemos, é claro, dos fatos observados nesse parasito, tirar conclusões gerais seguramente aplicáveis às espécies do gênero tripanozomo; certo, porém, os fenômenos biológicos aqui verificados não podem estar muito distantes dos analogos, ainda mal estudados, nos tripanozômos típicos.

III. O SCHIZOTRYPANUM CRUZI NO ORGANISMO DO HEMIPTERO TRANSMISSOR.

As pesquisas fundamentais sobre a intervenção das moscas hematofagas, na etiologia das tripanozomiaszes dos grandes mamíferos, foram realizadas por BRUCE, em memoráveis trabalhos sobre o nagana. Já antes, viajantes em certas regiões da África e também os indígenas conheciam o efeito malefício das picadas da mosca tse-tse; coube, porém, a BRUCE demonstrar experimentalmente a transmissão do parasito do nagana, *Trypanosoma brucei* pela *Glossina morsitans*.

Foi assim iniciado novo capítulo na história dos tripanozômos e aberta a via para numerosas pesquisas sobre esse assunto, do qual pontos importantes têm escapado, até agora, ao desejado esclarecimento.

A transmissão do plasmodio e do proteozoma pelos culicídeos indicava serem prováveis fenômenos evolutivos analogos nos tripanozomos. Desde as pesquisas de BRUCE, porém, aquela opinião foi abandonada, sendo substituída pela hipótese da transmissão do parasito ajindo os dípteros como simples veiculadores sem qualquer função biológica específica. A' tal conclusão levou o fato de ter BRUCE verificado que a *Glossina morsitans* só era transmissora dentro das primeiras 48 horas após a picada contaminante; observações recentes, porém, talvez mais exatas, vieram modificar a noção adquirida.

Arbeiten von SCHAUDINN wurde zuerst die Aufmerksamkeit der Forscher auf das Vorkommen sexueller Unterschiede bei *Haemoproteus* zu Anfang seines Entwicklungszyklus im Darms des Ueberträgers gerichtet. Beim *Halteridium* dagegen gestattet das verschiedene morphologische Bild der Gameten, welche deutlich zwei Geschlechtern entsprechen, keine weitere Diskussion.

Unter den *Trypanosomen* wurde die Zweigeschlechtlichkeit zuerst von PROWAZEK bei *Trypanosoma lewisi* angegeben. Bei diesem erleidet die Gestalt des Flagellaten im Magen des *Haematopinus spinulosus* deutliche Veränderungen, durch welche der Dimorphismus, der schon beim Blutparasiten der Ratte erkennbar ist und der Zweizahl der Geschlechter entspricht, noch deutlicher wird. V. PROWAZEK erkennt zwei Geschlechter an, während er das Vorkommen indifferenten Formen als noch zweifelhaft ansieht. Bei seinen eingehenden Untersuchungen über *Trypanosoma gambiense* gibt MINCHIN ebenfalls das Vorkommen zweier verschiedener Formen des *Trypanosoma* im Blute zu und konstatiert auch das Fortdauern dieses Dimorphismus im Anfange der Entwicklung im Darmkanale der *Glossina palpalis*.

Dagegen kommen BREINDL und MOORE in Beziehung auf *Trypanosoma gambiense*, *equiperdum* und *lewisi* zu entgegengesetzten Schlüssen; nach ihnen können Befruchtungsercheinungen, wenn sie bei *Trypanosomen* vorkommen, nur in einer Einwirkung des Blepharoplasts auf den Hauptkern bestehen, welche in der Einwanderung eines Teils der Substanz des ersteren ins Innere des zweiten bestünde. Diese Erscheinung bilde einen wichtigen Akt in der Entwicklungsreihe des *Trypanosoma* der Wirbeltiere.

BREINL und MOORE sehen in der Verschiedenheit der Bluttrypanosomen nur den Ausdruck aufeinander folgender Wachstumsphasen, indem sie bei keiner der — von ihnen studierten — Arten Anzeichen eines sexuellen Dimorphismus auffanden. — Sehen wir nun, was aus meinen Beobachtungen hervorgeht:

Der morphologische Dualismus des *Schizotrypanum cruzi* zeigt sich sehr deutlich in allen Entwicklungsphasen, sowohl beim Wir-

O descobrimento do tripanozômo da molestia do sono determinou tambem, pela maior importancia do assunto, visto tratar-se de molestia humana, numerosas investigações. Dellas vão rezultando, todos os dias, novos conhecimentos, sendo de esperar, seja brevemente rezolvido o importante problema.

Coube a BRUCE e CASTELLANI verificar experimentalmente o papel transmissor da *Glossina palpalls*, repetindo-se aqui fato similar ao da transmissão do nagana, pela *Glossina morsitans*, limitado o periodo infetante do diptero ás primeiras 48 horas apoz a picada contaminante.

Outros fatos, especialmente a presença de tripanozomos no organismo de glossinas recém-capturadas, cujo tubo dijestivo se apresentava vazio de sangue, lavaram alguns pesquisadores a admitir um ciclo evolutivo do flajelado no diptero transmissor.

Foram assim as observações de KOCH a respeito do *Trypanosoma brucei* e *Trypanosoma gambiense* no tubo dijestivo de glossinas. Nestas KOCH distinguiu diferenciações de fórmias que julgava ligadas á diversidade de sexos. Experimentando ainda com o *Trypanosoma gambiense*, KOCH verificou estádios nas glossinas *fusca* e *tachinoides*, de 10 a 20 dias apoz a refeição contaminante.

Similares resultados deram as pesquisas de STUHLMANN e KUDICKE sobre o *Trypanosoma brucei* na *Glossina fusca*. Para estes autores a evolução do parasito teria inicio pela multiplicação das fórmias indiferentes no intestino posterior, caminhando o tripanozomo dali para o intestino anterior, aonde teria lugar a fecundação e formação dos pequenos parasitos inoculaveis ao vertebrado. O estádio ultimo, porém, com parasitos na cavidade da tromba, só seria atinjido em 10% das glossinas em experiencia.

Os trabalhos de MINCHIN, GRAY e TULLOCH deram resultados muito interessantes. Verificaram na *Glossina palpalls*, estádios evolutivos do *Trypanosoma gambiense*, até o 4.º dia apoz a injestão contaminante, sendo a evolução, no *proctodæum*, pela diferenciação morfica do parasito em 2 tipos, interpretados pelos autores como sexos diferentes. Apoz

beltiere, als auch beim übertragenden Insekte. Es handelt sich um fundamentale Struktur-differenzen, die sich besonders in der Form des Chromatins am Hauptkern und Blepharoplast aussprechen und sich nicht durch das Wachstum erklären lassen, da sie bei beiden Organismen im selben Entwicklungszustande vorkommen. So zeigt bei den Merozoiten der Schizogonieförmigen aus der Lunge einer derselben, den wir als weiblich ansehen, gleich zu Anfang den Blepharoplast vom Hauptkerne getrennt und in diesem ein viel kleineres Caryosom als bei den Formen, die ich für männliche halte; bei letzteren findet sich in dieser Phase die Substanz des Blepharoplasts noch mit derjenigen des Hauptkernes vereinigt. Auch bei den intraglobulären Formen und den freien Flagellaten im Plasma ist derselbe Dimorphismus deutlich erkennbar; er äussert sich, wie beschrieben, nicht nur in den mehr nebensächlichen, grösseren Verhältnissen des Plasma, sondern auch in der Struktur des Blepharoplasts, welcher in einem Falle ein kleines rundes — im anderen Falle ein grösseres, eiförmiges und fast stets quer-gelagertes Caryosom aufweist. Auch bei der Struktur des Kernes findet sich dieselbe Duplizität der Bildung, wobei die geringere Chromatinmenge bei einen, der als weiblich aufgefassten, Form hervorzuheben ist. Die jugendlichen Formen, deren Kerne das Chromatin in Form eines langen und längs gelagerten Bandes zeigen, lassen diesen Dimorphismus deutlich erkennen.

Im Organismus des *Conorhinus* zeigt sich die morphologische Dualität am deutlichsten bei den zwei Formen aus den Speicheldrüsen, indem die eine schmale einen grossen Blepharoplast und einen langen Kern aufweist, welcher der Längsachse des Parasiten entsprechend gelagert ist, während der andere, mit breiterem Plasmakörper am Hinterende, einen kleineren Blepharoplasten zeigt.

Ich kann natürlich aus den bei diesen Parasiten beobachteten Tatsachen keine allgemeinen Schlüsse ziehen, welche sich mit Sicherheit auf die Arten des Genus *Trypanosoma* anwenden liessen; doch können die in meinem Falle sehr deutlich beobachteten bio-

o 4.º dia, raramente depois do 5.º, os flajelados desapareceriam do intestino, não sendo encontrados em qualquer dos órgãos da glossina. Em experiencias com *Stomoxys*, *Taeniorhincus* e outros dipteros, verificaram os pesquisadores fatos analogos, com mais rapido desaparecimento dos flajelados.

Nas tentativas de transmissão os resultados destes experimentadores não trazem ao assunto conclusões gerais decisivas. Só conseguiram infetar novos animais, fazendo-os picar pelas glossinas imediatamente apoz a injestão contaminante. MINCHIN, argumentando com as proprias observações e com as de outros pesquisadores, conclue pela existencia de ciclos evolutivos dos tripanozômos em hospedeiros especificos, não sendo a *Glossina palpalis* o transmissor natural do *Trypanosoma gambiense*, papel incumbido á *Glossina fusca*, segundo as experiencias de KOCH.

De interesse foi ainda nesses trabalhos, a verificação da presença de 2 tripanozômos no tubo dijestivo das glossinas em liberdade, *Trypanosoma grevi* e *T. tullochii*, muitas vezes confundidos, pelos pesquisadores, com estádios evolutivos dos tripanozômos dos grandes mamiferos e do *Trypanosoma gambiense*.

As investigações referidas, indicando seguramente o papel transmissor das moscas, falavam mais em favor da simples veiculação do flajelado pelo diptero. Realmente, nas tentativas de transmissão experimental, a função infetante do inséto só era exercida num pequeno espaço de tempo apoz a picada contaminante, o que parecia indicar a auzencia do ciclo evolutivo. Outras observações, porém, vinham contradizer as que referimos, mostrando a deficiencia dos conhecimentos nellas adquiridos. De fato, das investigações de BRUMPT, LÉGER, BILLET e KEYSSELITZ resulta o desenvolvimento dos tripanozomos dos peixes e das rãs no organismo de hiru-dineos, só evoluindo certas especies de tripanozomos em determinadas sanguesugas, o que indicava a necessidade de condições biologicas especiais.

Por outro lado, trabalhos fundamentais de SCHAUDINN sobre o *Haemoproteus* e os de v.

logischen Erscheinungen nicht sehr verschieden sein von den entsprechenden, aber noch wenig erforschten, die bei typischen Trypanosomen vorkommen.

III. DAS SCHIZOTRYPANUM IM ORGANISMUS DES CONORHINUS.

Die grundlegenden Forschungen über die vermittelnde Rolle blutsaugender Fliegen bei Trypanosomainfektionen wurden von BRUCE in seinen wertvollen Arbeiten über *Nagana* gemacht. Schon frühere Reisende in gewissen Gegenden Afrikas kannten ebensowohl, wie die Eingeborenen, die verderbliche Wirkung des Stiches der Tsetsefliegen, aber BRUCE zeigte zuerst durch Versuche die Uebertragung des Naganaparasiten, des *Trypanosoma brucei* durch die *Glossina morsitans*. So begann ein neues Kapitel in der Geschichte der Trypanosomen und es öffnete sich die Bahn für zahlreiche neue Untersuchungen über diesen Gegenstand; doch hat sich noch mancher wichtige Punkt der erwünschten Aufklärung entzogen. Die Entwicklungsgeschichte von *Plasmodium* und *Proteosoma* bei den Mücken deutete die Wahrscheinlichkeit ähnlicher Entwicklungsphasen bei Trypanosomen an. Doch wurde diese Ansicht seit den Arbeiten von BRUCE verlassen und durch die Annahme ersetzt, dass die Fliegen bei der Infektion rein mechanische Ueberträger darstellten. Zu diesem Schlusse führte die Beobachtung von BRUCE, dass *Glossina morsitans* nur in den ersten 48 Stunden nach ihrer Infektion (durch Stechen eines kranken Tieres) die Krankheit übertrug, was indessen nach neueren und wohl genaueren Untersuchungen nicht zutrifft.

Auch die Entdeckung des *Trypanosoma* der Schlafkrankheit führte infolge der grossen Wichtigkeit des Gegenstandes — handelte es sich doch um eine Erkrankung des Menschen — zu zahlreichen Forschungen, die täglich unsere Kenntnisse erweitern, so dass man eine baldige Lösung dieses wichtigen Problemes erwarten kann.

BRUCE und CASTELLANI war es vergönnt, die vermittelnde Rolle der *Glossina palpalis* festzustellen, wobei sich die bei der *Nagana*

PROWAZEK sobre o *Trypanosoma lewisi*, revelavam a existencia de ciclos sexuosos nos dipteros transmissores.

V. PROWAZEK verificou, no estomago do *Haematopinus spinulosus*, copulação entre individuos de sexos diferentes, com a formação de ooquinetos, do qual resultaria por processos de divisão hetero-polar semelhantes aos descritos por SCHAUDINN, flajelados do tipo critídias.

Os resultados de V. PROWAZEK foram confirmados nas investigações recentes de BALDREY (*Archiv. für Protistenkunde*, 1909), destas resultando mais o fato importante da transmissão do *Trypanosoma lewisi* a um rato indene, por um *Haematopinus*, cuja refeição infetante tivéra lugar 10 dias antes. Nesta verificação de BALDREY registra-se um fato de transmissão experimental indireta, apoz estádios evolutivos sistematicamente estudados, ficando aí excluída a veiculação mecânica do flajelado.

Concludentes também de um ciclo evolutivo no invertebrado são as recentes experiências de KLEINE, que verificou a transmissão do *Trypanosoma brucei* pela *Glossina palpalis*, decorrido o prazo mínimo de 10 dias, desde a injeção contaminante. Ha que assinalar, nas investigações deste pesquisador, a ausência do poder infetante do díptero nos primeiros dias depois da picada, fato analogo ao da transmissão do plasmodio e do proteozoma, cuja evolução nos culícidas só se completa apoz determinado tempo. Nas experiências sobre o *Trypanosoma gambiense* os resultados de KLEINE são também decisivos, verificando o poder infetante das glossinas 20 dias depois de contaminadas, permanecendo infetantes indefinidamente. KLEINE acredita na existencia de fase sexual nos hospedeiros intermediarios, e descreve estádios morficos diversos do parasito, desde o intestino posterior, onde a evolução teria inicio, até as fórmulas encontradas na tromba, inoculáveis nos vertebrados.

Os resultados de E. ROUBAUD, membro da missão de estudos da molestia do sono no Congo francez, registram conhecimentos

gemachte Beobachtung wiederholte, indem die Uebertragung sich auf die ersten 24 Stunden nach der infizierenden Blutaufnahme beschränkte.

Neuere Beobachtungen — besonders das Vorkommen von Trypanosomen im Organismus frisch gefangener und kein Blut enthaltender Glossinen — führten andere Forscher zur Annahme eines Entwicklungszyklus des Flagellaten im Ueberträger. So war es bei den Beobachtungen von KOCH über das Verhalten von *Trypanosoma brucei* und *gambiense* im Verdauungstrakte der Glossinen, wobei er Formenunterschiede feststellte, welche er auf einen sexuellen Dimorphismus zurückführte. Indem er weiter mit *Trypanosoma gambiense* experimentierte, fand KOCH 10-20 Tage nach der Aufnahme infektiösen Blutes Entwicklungsstadien bei *Glossina fusca* und *tachinoides*.

STUHLMANN und KUDICKE erhielten ähnliche Resultate bei ihren Untersuchungen über das Verhalten von *Trypanosoma brucei* in der *Glossina fusca*. Nach diesen Autoren beginnt die Entwicklung durch Vermehrung der indifferenten Formen im Hinterdarme, von wo aus sie nach dem vorderen Abschnitte desselben auswandern, woselbst die Befruchtung und Bildung kleiner, auf Wirbeltiere übertragbarer Parasitenformen stattfinden soll. Doch soll das Endstadium — kleine Flagellaten im Innern des Rüssels — nur bei 10 % der benützten Glossinen erreicht werden.

Die Arbeiten von MINCHIN, GRAY und TULLOCH ergaben sehr interessante Resultate. Sie fanden nämlich bei der *Glossina palpalis* Entwicklungsstadien des *Trypanosoma gambiense* bis 4 Tage nach der Aufnahme parasitenhaltigen Blutes, wobei die Entwicklung im Proktodäum mit dem Auftreten zweier Typen begann, welche nach den Autoren verschiedenen Geschlechtern entsprechen. Nach dem vierten, oder nur selten, nach dem fünften Tage verschwanden die Flagellaten aus dem Darne der Glossinen und wurden auch nirgends in den anderen Organen gefunden. Bei Versuchen mit *Stomoxys*, *Taeniorhynchus* und anderen Zweiflüglern machten sie ähnliche Beobachtungen, wobei indessen die Flagellaten noch rascher verschwanden. Die

novos do mais alto interesse, chegando o autor, sobre alguns pontos do assunto, a conclusões de grande importancia.

Este autor considera 3 modalidades no mecanismo de transmissão dos tripanozomos pelas glossinas:

1. Transmissão direta, imediata, na qual as glossinas ajiriam como lancetas inoculadoras.
2. Transmissão indireta, apoz um periodo de evolução mais demorada, *sem fenomeno sexual*; caminhando nesta o flajelado do intestino posterior, séde de multiplicação ativa, para o *proctodaeum*, e para o canal da tromba.
3. Finalmente, evolução de natureza muito especial, realizada em parasitos morfologicamente diferenciados, prezos ás paredes internas da tromba.

Nesta ultima modalidade supõe o autor a ocurencia de fenomenos de autogamia, analogos aos descritos nas amebas e em outros protozoarios; delles, porém, não encontrámos, nas descrições, demonstração convincente.

ROUBAUD considera a multiplicação ordinaria dos tripanozomos, verificada no tubo dijestivo de todas as glossinas, alimentadas em animais contaminados, como culturas do parasito, identicas ás obtidas no meio artificial de agar-sangue.

Neste ponto é interessante comparar os resultados observados com diversas especies de tripanozômos (*brucei*, *gambiense*, *dimorphon*, *congolense*, *cazalboui*, etc.), verificando-se, assim, que o tempo de permanencia destas especies no tubo dijestivo das moscas é muito variavel, algumas das especies tendo aí pouco tempo de vida, quando outras perduram, em atividade e em multiplicação, até que desapareçam todos os detritos da dijestão do sangue. De demoradas pesquisas conclue ROUBAUD pela auzencia de migração, das fórmias de cultura, do intestino médio para o anterior e para a tromba, não passando ellas tambem para a cavidade geral ou para qualquer outro organ da glossina. Assim pois, não serão fórmias que possam infetar,

Uebertragungsversuche dieser Autoren gestatten keine entscheidende Schlüsse, da sie Tiere nur dann infizieren konnten, wenn sie dieselben durch Glossinen stechen liessen, welche soeben infektiöses Blut aufgenommen hatten. Gestützt auf eigene und fremde Beobachtungen schliesst MINCHIN auf das Vorkommen eines Entwicklungskreises der Trypanosomen bei specifischen Zwischenwirten. Für das *Trypanosoma gambiense* wäre die *Glossina palpalis* nicht der natürliche Ueberträger, während diese Rolle nach den Versuchen von KOCH der *Glossina fusca* zufiele.

In diesen Arbeiten interessiert uns noch das Auffinden zweier Trypanosomen (T. GRAYI und T. TULLOCHI) im Darne frisch eingefangener Glossinen, welche von früheren Forschern häufig mit Entwicklungsstadien von *Trypanosoma gambiense* und verschiedenen Arten aus grossen Wirbeltieren verwechselt wurden.

Obgleich die besprochenen Untersuchungen die Rolle der Fliegen als Ueberträger völlig bestätigten, sprachen sie doch mehr zu gunsten einer einfachen mechanischen Uebertragung der Flagellaten. In der Tat beschränkte sich bei den Uebertragungsversuchen die Funktion der Insekten als Krankheitsvermittler auf eine kurze Frist nach dem Stechen eines infizierten Tieres, was das Bestehen eines Entwicklungszyklus auszuschliessen schien. Diesen Beobachtungen wurde jedoch durch andere widersprochen, welche die Mangelhaftigkeit jener Befunde zeigten. So ging aus den Untersuchungen von BRUMPT, LEGER, BILLET und KEYSSELITZ eine Entwicklung von Fisch- und Froschtrypanosomen im Organismus von *Hirudineen* hervor, wobei sich jede Art nur bei bestimmten Blutsaugern entwickelte, was die Notwendigkeit besonderer biologischer Bedingungen beweist. Andererseits zeigten die fundamentalen Arbeiten von SCHAUDINN über *Hämoproteus* und diejenigen von PROWAZEK über *Trypanosoma lewisi* das Vorkommen sexueller Entwicklungsreihen in den übertragenden Insekten. PROWAZEK fand im Magen von *Hämatopinus spinulosus* eine Kopulation zwischen Individuen verschiedenen Geschlechtes mit darauf folgender Bildung eines *Ookineten*, von wel-

por picada, os vertebrados sensíveis. Os aspetos destes flajelados não são semelhantes aos encontrados nas culturas do *Trypanosoma lewisi*, não se verificando os estádios em críditias; acredita o autor ser esse fato peculiar aos tripanozomos patojénicos.

Lembradas essas experiencias, no intuito de estabelecer paralelo entre ellas e os resultados de nossos trabalhos, devemos referir ainda a opinião divergente de alguns pesquisadores, especialmente a de NOVY e MAC NEAL, a de BREINL e MOORE, a de PATTON e a de ROSS.

NOVY e MAC NEAL contestaram os trabalhos de SCHAUDINN sobre o Hemoproteo, opinando, a principio, que se tratava de simples cultura de um tripanozomo da *Athene noctuae* no culex; mais tarde, depois da verificação, multiplas vezes repetida, de flajelados no trato intestinal de inséto, sugadores de sangue ou não, aquelles pesquisadores passaram a interpretar as fórmulas flajeladas de SCHAUDINN como sendo parasitos naturais do culex, sem qualquer relação com os hemoparasitos da *Athene noctuae*.

Na infecção natural de hematofagos por flajelados das especies críditia e herpetomonas, NOVY e MAC NEAL encontram a cauza de erro em que supõem incididos outros pesquisadores, descrevendo o desenvolvimento de tripanozomos de vertebrados no organismo dos inséto.

BREINL e MOORE julgam que o ciclo vital completo de um tripanozomo é realizado no organismo dos vertebrados. Bazea-se essa opinião na presença de corpos de resistencia nos órgãos de animais infetados, sendo o aparecimento dellas consecutivo a uma ação do blefaroplasto sobre o nucleo principal. Praa demonstrar ser dispensavel, na evolução dos tripanozomos, uma fase sexuada em invertebrados, lembram o caso da durina, tripanozomiaze transmitida pelo coito.

PATTON, que tem trazido grande contribuição ao estudo de flajelados do tubo digestivo de inséto sugadores, acredita que estes exercem, na transmissão dos tripanozomos de vertebrados, o papel simples de veícula-

chem durch eine, der von SCHAUDINN beschriebenen ähnliche, heteropolare Kernteilung Flagellaten von *Crithidia*-typus erzeugt werden.

Die Befunde von PROWAZEK wurden bestätigt durch neuere Untersuchungen von BALDREY (Arch. für Protistenk., 1909); diese ergaben auch die wichtige Tatsache der Uebertragung des *Trypanosoma lewisi* auf normale Ratten durch Läuse, welche 10 Tage vorher infektiöses Blut gesogen hatten. Dieselben Beobachtungen erweisen auch die indirekte experimentelle Uebertragung — nach den systematisch studierten Entwicklungszuständen —, wobei eine mechanische Uebertragung des Flagellaten ausgeschlossen ist.

Auch die neueren Untersuchungen von KLEINE lassen auf einen Entwicklungszyklus beim Ueberträger schliessen; derselbe beobachtete die Uebertragung des *Trypanosoma brucei* durch die *Glossina palpalis* nach einer Minimalzeit von 10 Tagen nach der Aufnahme infektiösen Blutes. Dabei muss auch das Fehlen der Infektiosität der Fliege in den ersten Tagen hervorgehoben werden, in Uebereinstimmung mit der Uebertragung von *Plasmodium* und *Proteosoma*, zu deren vollständiger Entwicklung bei den Mücken eine bestimmte Zeit nötig ist. Auch bei den Versuchen über *Trypanosoma gambiense* waren die Ergebnisse von KLEINE entscheidend; er konstatierte die Infektiosität der Glossinen 20 Tage nach der Blutaufnahme; dieselbe erhielt sich unbeschränkte Zeit. KLEINE glaubt an das Vorkommen sexueller Phasen bei Trypanosomen in den Zwischenwirten und beschreibt verschiedene Parasitenformen, von denjenigen im Hinterdarme — wo die Entwicklung beginnen soll — bis zu den Formen, welche im Rüssel vorkommen und sich auf Wirbeltiere übertragen lassen.

Auch die Versuche von E. ROUBAUD, Mitglied einer Mission zum Studium der Schlafkrankheit im französischen Congo-Gebiete, ergaben wissenschaftliche Resultate von höchstem Interesse. Derselbe erörtert drei Modalitäten des Mechanismus bei der Uebertragung der Trypanosomen durch Glossinen: 1. Direkte, unmittelbare Uebertragung, bei welcher die Glossinen als Inokulationsinstrument die-

dores. Opinião idêntica é a de ROSS, que verificou, nas larvas e ninfas de culícidas, flajelados do género *critidia*.

Vamos concluir agora das nossas investigações:

Experimentando com larvas creadas no laboratório e tendo excluído a infecção hereditária de flajelados nellas, nossos resultados escapam a objecção de ser possível aqui tratar-se de flajelados naturais do hemiptero. Além de que, larvas testemunhas eram alimentadas em animais normais e nellas nunca encontramos parasitos.

As experiencias testemunhas tornaram-se necessarias, *maxime* por termos verificado a a presença de flajelados, no intestino médio, da quazi totalidade de conorrinos, colhidos nas habitações, o que levava a crêr fossem elles parasitos naturais do inséto. Em verdade, não estamos, por enquanto, habilitado a decidir sobre esse ponto, sendo possível que os conorrinos, transmissores do *Schizotrypanum cruzi*, sejam naturalmente parasitados por flajelados do género *critidia*. Para explicar a infecção da totalidade de conorrinos por flajelados, admitindo que estes representem sempre estádios evolutivos do *Schizotrypanum*, fôra necessario supôr outro modo de contaminação do hemiptero, talvez a infecção das larvas pelos excrementos de hemipteros já infetados (LUTZ). Isso, porque a picada de vertebrados contaminados certamente não ocasionaria, com tanta constancia, infecção dos conorrinos. Verdade é que não existe diferença alguma morfolojica, entre os flajelados do tubo dijestivo das larvas infetadas no laboratório e os dos conorrinos colhidos nas residencias humanas. Por outro lado, a inoculação em cobaias do material do intestino de larvas, experimentalmente contaminadas, forneceu-nos diversos resultados positivos, fallando algumas vezes, o mesmo acontecendo aos flajelados do intestino de inséto recém-capturados. Seja como fôr, embóra devamos voltar a novas pesquisas para esclarecer amplamente a natureza dos flajelados do intestino de conorrinos em liberdade, nossas observações sobre o desenvolvimento do *Schizotrypanum* acham-se izentas de qualquer

nen. 2. Indirekte Uebertragung nach einer längeren Entwicklungsperiode, aber ohne geschlechtliche Phase, bei welcher der Flagellat — nach aktiver Vermehrung im Hinterdarme — nach dem Vorderdarme und dem Kanale des Rüssels auswandert. 3. Endlich, eine Evolution von besonderer Art, welche sich an, der Form nach verschiedenen, Parasiten vollzieht, die den inneren Wänden des Rüssels anhaften. Bei letzterem Modus vermutet der Autor das Vorkommen von Autogamie, analog mit derjenigen, die bei Amoeben und anderen Protozoen beschrieben ist; doch fand ich in den Beschreibungen keinen überzeugenden Nachweis desselben.

ROUBAUD sieht in der gewöhnlichen Vermehrung der Trypanosomen, die im Darmkanal aller an infizierten Tieren ernährten Glossinen gefunden wurde, eine Kultur des Parasiten, welche mit derjenigen übereinstimmt, welche man auf Blut-Agar erhält. Dabei ist es von Interesse, die Resultate zu vergleichen, die man bei verschiedenen Arten von *Trypanosoma* (*brucei* — *gambiense* — *dimorphon* — *congolense* — *cazalboui* etc.) erhält; man konstatiert dabei, dass die Zeit der Permanenz im Darmkanale der Fliegen bei den verschiedenen Arten sehr variirt, indem einige daselbst nur kurze Zeit leben, während andere volle Aktivität und Vermehrung zeigen, bis die Reste des verdauten Blutes verschwinden. Aus lange dauernden Untersuchungen schliesst ROUBAUD auf das Fehlen einer Migration der Kulturformen vom Mitteldarme nach dem Vorderdarme und dem Rüssel; ebensowenig sollen sie nach der Leibeshöhle oder einem anderen Organ der Glossinen wandern. Demgemäss wären es Formen, welche nicht durch den Stich auf Wirbeltiere verimpft werden können. Die Bilder dieser Flagellaten gleichen keineswegs denjenigen in den Kulturen von *Trypanosoma lewisi*, indem hier die Crithidiaform nicht gefunden wird. Dieses Verhältniss ist nach der Meinung des Autors den krankheitserzeugenden Trypanosomen eigentümlich.

Nach Rekapitulierung dieser Versuche, zum Zweck der Vergleichung derselben mit meinen Ergebnissen, muss ich noch einige abweichende Meinungen erwähnen, besonders die-

objeção, uma vez que fôram praticadas no laboratório em larvas aí nascidas.

Temos, em nossas experiencias, diversos resultados positivos de transmissão do *Schizotrypanum cruzi* pelo conorrino, larva ou adulto, ~~10~~ ou mais dias depois da injeção contaminante. O prazo minimo, até agóra verificado, para que o inséto se torne infetante, é de ~~10~~ dias; quanto ao tempo de duração do poder infeciozo não o avaliámos ainda, sendo todavia longo, confôrme resulta de algumas experiencias. Fica, dest'arte, excluido o papel mecanico excluzivo do hemiptero, e mesmo que esse possa atuar como simples veículador na transmissão imediata do parasito, o que nunca verificámos, a função principal será de hospedeiro intermedia-rio, no qual o flajelado passa por ciclo evolutivo, que se completa no prazo minimo de ~~10~~ dias.

No *Conorhinus*, o *Schizotrypanum cruzi* apresenta duas modalidades evolutivas bem distintas: uma dellas é constante e se observa sempre que o inséto suga vertebrado infetado, qualquer que seja. Desta o ultimo estádio é o de parasitos, com tipo de critidias, do intestino médio. As fórmãs aqui encontradas são inteiramente analogas ás das culturas artificiais e as larvas, apesar de apresentarem os parasitos no intestino, não são infetantes para outros vertebrados. Pensámos ser esse um desenvolvimento identico ao das culturas em agar-sangue, não tendo elle nenhuma importancia na transmissão do *Schizotrypanum*. Cazo analogo é o referido nos trabalhos de ROUBAUD; no nosso cazo porém, devido ás condições anatomo-fisiologicas especiais, os detritos da dijestão do sangue permanecem por muitos dias no intestino do conorrino sendo, por isso, longa a permanencia dos flajelados.

Não seria talvez inaceitavel a hipoteze de que esse desenvolvimento representa a multiplicação das fórmãs indiferentes, admitindo com SCHAUDINN, a existencia dellas; ou será a multiplicação de fórmãs femeas não fecundadas.

Verificámos muitas vezes, a auzencia de migração dos flajelados, do intestino médio

jenigen von NOVY und MAC NEAL, BREINL und MOORE, PATTON und die von ROSS.

NOVY und MAC NEAL traten den Arbeiten von SCHAUDINN über *Haemoproteus* entgegen, indem sie zuerst glaubten, dass es sich nur um die Kultur eines Trypanosoma der *Athene noctuae* in den Mücken handle; später nach vielfach wiederholtem Auffinden von Flagellaten bei blutsaugenden und anderen Insekten — glaubten diese Forscher die Flagellatenformen von SCHAUDINN als natürliche Parasiten der Mücke — ohne irgendwelche Beziehung zu den Blutparasiten des Kauzes — auffassen zu dürfen.

In einer solchen natürlichen Infektion blutsaugender Insekten durch Arten von *Crithidia* und *Herpetomonas* suchen NOVY und MAC NEAL die Ursache der Irrtümer, in welche ihrer Meinung nach andere Forscher verfielen, wenn sie die Entwicklung von Wirbeltiertrypanosomen im Organismus von Insekten beschrieben.

BREINL und MOORE glauben, dass der vollständige Entwicklungskreis eines Trypanosomas im Organismus der Wirbeltiere stattfindet. Sie stützen ihre Meinung auf das Vorkommen von Widerstandsformen in den Organen der infizierten Tiere; das Auftreten derselben sei die Folge einer Einwirkung des Blepharoplasten auf den Hauptkern (Autogamie). Sie erinnern an den Fall der Dourine, bei welcher die Trypanosomen durch Coitus übertragen werden, um zu beweisen, dass im Entwicklungskreis der Trypanosomen eine sexuelle Phase im Innern des Ueberträgers entbehrlich ist.

PATTON, der vielfache Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten aus dem Darne von Insekten geliefert hat, glaubt, dass letztere bei der Uebertragung der Wirbeltiertrypanosomen die Rolle bloss mechanischer Ueberträger spielen. Dieselbe Meinung hat ROSS, welcher bei Larven und Nymphen von Culiciden Flagellaten des Genus *Crithidia* fand.

Ich komme nun zu den Schlüssen aus meinen eigenen Untersuchungen: Da ich mit Larven arbeitete, die im Laboratorium gezüchtet waren, auch eine erbliche Uebertragung der Flagellaten ausgeschlossen hatte, so ent-

para as partes anteriores do tubo digestivo do inseto, examinando, logo após as refeições do *Conorhinus*, o conteúdo do intestino anterior. Aí não são encontradas, nesse momento, formas de critídias o que deveria acontecer se a infecção do vertebrado fosse determinada pela acensão, no ato da picada, dos flagelados do intestino médio até a tromba.

De acordo com esses fatos, os estádios de critídias, no *Conorhinus*, nenhuma significação tem para a infecção do vertebrado; representam talvez, um retrocesso à condição larvaria primitiva, devido às influências do meio, podendo ainda servir, caso haja infecção pelos excrementos, para manter a vida do protozoário nas gerações sucessivas de conorrinos.

Da outra modalidade de evolução, que representa, a nosso ver, o verdadeiro ciclo evolutivo do flagelado, eficaz na transferência d'elle entre vertebrados, surpreendemos 4 estádios diversos: 2 no intestino anterior, representados pelos organismos da Est. 12, Fig. 78-82 e pela forma esquizogônica da Est. 12, Fig. 89, 1 na cavidade geral e o último nas glândulas salivares.

Não conhecemos o determinismo do aparecimento destas formas; nossas experiências, porém, mostram serem as duas primeiras observadas, com frequência, nas larvas alimentadas em *Callithrix*, inicialmente infetados pelo hemiptero, ao passo que não conseguimos obtel-as quando experimentando com larvas infetadas em cobaias. Por outro lado, nas tentativas de transmissão pelas picadas do inseto, verificámos fatos similares, isto é, o poder infetante das larvas contaminadas nos *Callithrix* e a ausência d'elle nas nutridas em cobaias, cuja infecção era produzida por inoculação de sangue.

Raciocinando sobre esses resultados, somos levado a admitir uma condição especial do flagelado, da qual dependeria a ocorrência do ciclo evolutivo sexuado, no organismo do inseto transmissor. Para o *Schizotrypanum cruzi* aquella condição seria realizada no *Callithrix penicillata* e provavelmente no homem,

gehen meine Resultate dem Einwurfe, dass es sich um natürlich bei Hemipteren vorkommende Flagellaten handle. Ausserdem wurden andere Larven zur Kontrolle an gesunden Tieren ernährt, wobei immer die Parasiten fehlten.

Kontrollexperimente waren geboten, besonders, weil ich Flagellaten im Mitteldarme fast aller in Wohnungen gefangener Conorhinen fand, was dazu verleiten könnte, sie für natürliche Parasiten des Insektes anzusehen. In der Tat kann ich zur Zeit diese Frage nicht entscheiden, da es möglich ist, dass die Conorhinen, welche das *Schizotrypanum cruzi* übertragen, natürlich mit Flagellaten des Genus *Leptomonas* (*Crithidia*) infiziert sind. Zur Erklärung der Infektion sämtlicher Conorhinen durch Flagellaten — vorausgesetzt, dass diese Entwicklungsformen des *Schizotrypanum* darstellen — wäre es nötig, einen anderen Infektionsmodus bei den Wanzen anzunehmen, z. B. die Infektion der Larven durch die Exkremente bereits infizierter Individuen (LUTZ). Es ist nämlich kaum anzunehmen, dass das Stechen infizierter Wirbeltiere mit solcher Regelmässigkeit die Infektion der Conorhinen herbeiführen würde. Allerdings existiert kein Unterschied zwischen den Parasiten aus dem Darne im Laboratorium infizierter Larven und solcher von Conorhinen, die in menschlichen Wohnungen gefangen wurden. Andererseits ergab mir die Einimpfung von Material aus dem Darne experimentell infizierter Larven auf Meerschweinchen, neben einigen negativen, verschiedene positive Ergebnisse und dasselbe geschah bei Flagellaten aus dem Darne frisch gefangener Wanzen. Obwohl ich nun meine Untersuchungen wiederholen muss, um die Natur der Flagellaten aus dem Darne freilebender Conorhinen vollständig aufzuklären, so sind doch meine Beobachtungen über die Entwicklung des *Schizotrypanum* vollständig einwandfrei, da sie mit im Laboratorium gezüchteten Larven angestellt wurden.

Ich erhielt bei meinen Versuchen über die Uebertragung des *Schizotrypanum cruzi* durch *Conorhinus* im erwachsenen oder Larven-Zustande verschiedene positive Resultate ~~zehn~~ 8

sendo estes os hospedeiros capazes de infetar conorrinos que se tornariam infetantes. Devemos aqui referir as nossas ultimas observações a respeito da morfologia do parasito no organismo das cobaias. Nas primeiras investigações realizadas em *Callithrix* e cobaias, era constante e muito evidente o dimorfismo do flajelado, conforme referimos e vem demonstrado em nossos desenhos; actualmente, porém, talvez devido a repetidas passagens pelo organismo de cobaias, os parasitos se apresentam, quasi sempre, com um unico aspecto morfico, não havendo agora a primitiva evidencia do dimorfismo.

Como explicar essa mudança na morfologia do parasito? Será uma adaptação lenta ao organismo da cobaia, resultando daí a predominancia de uma forma do esquizotripano, que seria a indiferente?

Devemos voltar a novas observações sobre esse fato, para dizer delle com segurança.

A influencia de certa condição dos tripanozomos, no sangue dos vertebrados, sobre a infecção dos insetos, vem admitida nos resultados das pesquisas de KOCH. Este verificou tornarem-se infetantes as glossinas que sugavam vertebrados com pequeno numero de parasitos, ao passo que outras, alimentadas em animais com abundancia de tripanozômos, não adquiriam o poder transmissor. Assim, pois, nossa dedução, baseada em diversas experiencias, incide na daquelle observador.

De grande importancia foi a nossa verificação de parasitos na cavidade geral e nas glandulas salivares do conorrino. Retiravamos o liquido da cavidade, amputando as pernas ou pela punção, com tubos capilares, do abdome, não podendo sofrer duvida a observação. Os insetos que apresentavam formas parasitarias na cavidade geral mostraram, no intestino médio, formas de crithidias, aí não sendo visto nenhum parasito com blefaro-plasto posterior ao nucleo principal. Quanto aos flajelados das glandulas salivares, apresentam aspecto morfologico muito especial, diverso do verificado em todos os outros estádios da evolução. Nenhuma duvida temos que sejam aquellas as formas infetantes dos

oder mehr Tage nach der infektiösen Blutaufnahme. Bis jetzt sind ~~10~~ Tage der kürzeste Termin, der nach meinen Feststellungen nötig war, um dem Ueberträger die Eigenschaft der Infektiosität zu verleihen; wie lange letztere anhält, kann ich noch nicht angeben, doch beweisen mehrere Versuche eine lange Dauer derselben.

Auf diese Weise wird bei *Conorhinus* die Rolle des mechanischen Ueberträgers ausgeschlossen; wenn derselbe auch als einfacher Träger des Virus funktionieren könnte, was ich niemals beobachtete, so bliebe doch seine Hauptrolle diejenige des Zwischenwirtes, in welchem der Flagellat einen Entwicklungskreis durchmacht, zu dessen Vollendung ein Minimum von ~~10~~ Tagen nötig ist. Das *Schizotrypanum cruzi* zeigt beim *Conorhinus* zwei deutlich verschiedene Arten der Entwicklung; eine derselben ist konstant und wird immer beobachtet, wenn das Insekt ein infiziertes Wirbeltier beliebiger Art sticht; ihr letztes Stadium besteht in Parasiten des Mitteldarms von *Leptomonas*-typus (*Crithidia*). Die hier gefundenen Formen stimmen vollständig mit solchen aus künstlichen Kulturen überein und die Larven sind für andere Wirbeltiere nicht infektiös, obwohl sie Parasiten im Darne aufweisen. Ich halte diese Entwicklungsart für gleichwertig mit derjenigen der Blut-Agar-Kulturen und ohne Bedeutung für die Uebertragung des *Schizotrypanum*. Es ist dies ein analoger Fall mit dem oben von ROUBAUD berichteten, jedoch bleiben, wegen besonderer anatomischer und physiologischer Bedingungen, die Residuen der Blutverdauung längere Zeit im Darne des *Conorhinus*, was die lange Permanenz der Flagellaten erklärt.

Wie mir scheint, ist die Hypothese nicht ohne weiteres abzulehnen, dass diese Entwicklungsart eine Vermehrung der indifferenten Formen darstellt (wenn man mit SCHAUDINN das Vorkommen solcher annimmt); es kann sich aber auch um eine Vermehrung unbefruchteter weiblicher Formen handeln.

Das Fehlen einer Ueberwanderung der Flagellaten aus dem Mitteldarme nach den mehr nach vorne gelegenen Partien des Darmkanales habe ich oftmals festgestellt, indem

vertebrados; julgámos, porém, necessario praticar novas pesquisas para melhor esclarecimento desta fase.

O outro ponto, sobre o qual devemos insistir, é a natureza da divizão nuclear nos tripanozômos. BREINL e MOORE, uzando aliaz processos seguros de fixação e de coloração, julgam que a divizão do nucleo principal dos tripanozomos é amitozica, nunca tendo verificado os aspétos de mitoze referidos por V. PROWAZEK.

Estudando a multiplicação do parasito, no intestino do conorrino, tivémos oportunidade de referir fazes de mitoze bem evidentes. Posteriormente, no sangue periférico de uma cobaia, observámos uma figura de mitoze do nucleo principal, que resolve, pela sua clareza, definitivamente a questão. (Est. 12, Fig. 88). Aí se observam duas placas secundarias (placas filhas) de cromozomios, situadas sobre o fuзо de substancia acromatica; no centro deste é vizivel o filamento central, em cujas extremidades se encontram os dois centriolos. Trata-se ainda, nesse cazo, de divizão precoce do nucleo, precedendo a esquizogonia no pulmão.

Rezumindo:

- 1.º O *Schizotrypanum cruzi* apresenta, no organismo do conorrino, duas modalidades de desenvolvimento, representando a primeira simples cultura do parasito; a outra, provavelmente precedida de fenomenos sexuais não surpreendidos, será, talvez, o ciclo evolutivo, eficaz na transmissão entre os vertebrados.
- 2.º O *Conorhinus* é um verdadeiro hospede intermediario do *Schizotrypanum*, cujo ciclo é realizado num prazo minimo de ~~10~~ dias.
- 3.º Os flajelados, com tipo de critidias encontrados nos conorrinos em liberdade, podem representar estádios culturais do *Schizotrypanum* ou serão parasitos exclusivos do inséto.
- 4.º A occurencia do ciclo evolutivo sexuado, no organismo do conorrino, depende de condição, não explicada, dos flajelados no sangue dos vertebrados.

ich bei den Conorhinen kurz nach der Nahrungsaufnahme den Vorderdarminhalt untersuchte. Man findet hier zu solcher Zeit keine *Crithidien*-formen, wie es sein müsste, wenn die Ansteckung der Wirbeltiere beim Stiche durch das Aufsteigen der Flagellaten aus dem Mitteldarme nach dem Rüssel stattfände.

In Uebereinstimmung mit diesen Tatsachen haben die *Crithidien*-stadien im *Conorhinus* keine Bedeutung für die Infektion des Wirbeltieres; vielleicht repräsentieren sie ein Zurückkehren zu einem phylogenetisch ursprünglichen Zustande als Folge der Einflüsse des Mediums; dabei könnten sie, wenn es eine Infektion durch Exkremeente gibt, dazu dienen, das Leben der Protozoen auch in auf einander folgenden Generationen von Conorhinen zu erhalten.

Die andere Entwicklungsart vertritt meines Erachtens den eigentlichen Entwicklungszyklus des Parasiten, der bei seiner Uebertragung auf Wirbeltiere zur Geltung kommt; ich habe von demselben vier verschiedene Stadien angetroffen: zwei im Vorderdarm, nämlich die runden Formen (Taf. 12, Fig. 78—82), und die Schizogonieforn (Taf. 12, Fig. 89), ferner eine aus der Körperhöhle und die letzte aus den Speicheldrüsen.

Die veranlassenden Umstände des Auftretens dieser Formen kenne ich noch nicht, doch zeigen meine Versuche die Häufigkeit des Vorkommens der beiden ersten bei Larven, welche an — ursprünglich durch Wanzen infizierten — *Callithrix*-affen gefüttert wurden. Dagegen konnte ich sie nicht erhalten, wenn ich mit an Meerschweinchen infizierten Larven experimentierte. Andererseits beobachtete ich ähnliche Verhältnisse bei Versuchen durch den Stich der Conorhinen, nämlich die Infektiosität der Larven, welche durch die Aeffchen infiziert waren und das Fehlen einer solchen bei Larven, welche an — durch Blutinjektion infizierten — Meerschweinchen genährt wurden.

Beim Ueberlegen dieser Ergebnisse sehe ich mich veranlasst, einen besonderen Zustand der Flagellaten anzunehmen, von dem das Auftreten eines geschlechtlichen Entwicklungszyklus im Organismus des Ueberträgers ab-

Ao terminar, cumprimos o grato dever de afirmar o maior reconhecimento ao nosso mestre e Diretor Dr. GONÇALVES CRUZ, a cuja orientação devemos o resultado destas pesquisas. Somos ainda profundamente grato aos nossos mestres, Professores S. VON PROWAZEK e M. HARTMANN, de quem recebemos os melhores ensinamentos para conclusão deste trabalho. Também somos em extremo obrigado ao Dr. ADOLPHO LUTZ, cujo auxílio nos foi do mais alto proveito.

Tivemos sempre, como esforçado companheiro de trabalho na zona infestada pela nova espécie morbida, o Dr. BELISARIO PENNA, a quem devemos os inestimáveis proveitos de um auxílio eficaz.

hängt. Für das *Schizotrypanum cruzi* fände sich dieser Zustand bei *Callithrix penicillata* und wahrscheinlich beim Menschen; sind doch diese die Wirte, welche die Conorhinen infektiös machen können.

Hier muss ich auch meine letzten Beobachtungen über die Morphologie des Parasiten im Organismus der Meerschweinchen anführen. Bei den ersten Untersuchungen, welche an *Callithrix* und Meerschweinchen vorgenommen wurden, war der Dimorphismus der Flagellaten konstant und in die Augen springend, wie aus meiner Darstellung und den Zeichnungen hervorgeht; heute dagegen — vielleicht als Folge wiederholter Meerschweinchenpassagen — zeigen die Parasiten fast immer eine einzige Form, ohne den ursprünglichen auffälligen Dimorphismus. Wie erklärt sich diese Veränderung in der Morphologie des Parasiten? Ist es eine langsame Anpassung an den Meerschweinchenorganismus, durch welche das Vorwiegen einer Form des *Schizotrypanum*, nämlich der indifferenten, zustandekommt? Um dies mit Sicherheit zu beantworten muss ich meine Beobachtungen in Hinsicht auf diese Frage wieder aufnehmen.

Der Einfluss eines bestimmten Zustandes der Trypanosomen im Blute der Wirbeltiere auf die Infektion der Insekten wird in den Resultaten der Forschungen von KOCH zugegeben. Derselbe stellte fest, dass Glossinen infektiös wurden, wenn sie Blut von Wirbeltieren mit wenig Parasiten sogen, während andere, die an Tieren mit grosser Parasitenzahl ernährt wurden, die Uebertragungsfähigkeit nicht erwarben. So stimmt meine auf andere Experimente basierte Schlussfolgerung mit der jenes Forschers überein.

Sehr wichtig war die Feststellung des Vorkommens von Parasiten in den Speicheldrüsen und dem Lacunom der Conorhinen. Ich entnahm die Flüssigkeit des letzteren durch Abschneiden der Beine oder Punction des Abdomens mittelst Capillaren, sodass die Beobachtung einwandfrei ist. Die Wanzen, welche Parasiten des Lacunoms zeigten, boten im Mitteldarm nur *Crithidien*-formen, bei Fehlen vom Parasiten mit hinter dem Haupt-

kern liegendem Blepharoplasten. Die Flagellaten der Speicheldrüsen geben ein ganz besonderes morphologisches Bild, welches sich von allen anderen Entwicklungsstadien unterscheidet. Es ist für mich zweifellos, dass dies die für Wirbeltiere infektiösen Formen sind; doch glaube ich, dass zur vollständigen Aufklärung dieser Phase noch weitere Untersuchungen nötig sind.

Ein anderer Punkt, auf den ich eingehen muss, ist die Art der Kernteilung bei den Trypanosomen. BREINL und MOORE, welche im Uebrigen eine zuverlässige Färbungs- und Fixierungstechnik gebrauchten, glauben, dass die Teilung des Hauptkernes bei den Trypanosomen amitotisch sei, da sie niemals die von v. PROWAZEK angegebenen Mitosebilder feststellen konnten. Beim Studium der Vermehrung des Parasiten im Darms des *Conorhinus* hatte ich Gelegenheit, sehr deutliche Mitosestadien zu erkennen. Später beobachtete ich in peripherischen Blute eine Mitosefigur des Hauptkernes, welche durch ihre Deutlichkeit die Frage definitiv entscheidet (Taf. 12, Fig. 88). Man bemerkt bei derselben zwei sekundäre Platten von Chromosomen (Tochterplatten), welche auf einer achromatischen Spindel liegen; im Zentrum derselben erblickt man den Zentralfaden, an dessen Enden die zwei Centriolen sichtbar sind. Es handelt sich auch in diesem Falle um eine frühzeitige Mitose des Kernes, welche der Schizogonie in der Lunge vorausgeht.

Wenn ich noch einmal resumiere, so zeigt:

1. Das *Schizotrypanum cruzi* im Organismus des *Conorhinus* zwei Arten der Entwicklung, von denen die erste eine einfache Kultur des Parasiten darstellt, während die

andere — wahrscheinlich durch nicht beobachtete sexuelle Vorgänge eingeleitete — vielleicht den richtigen Entwicklungszyklus zeigt, welcher bei der Uebertragung von Wirbeltier zu Wirbeltier in Tätigkeit tritt.

2. Ist der *Conorhinus* der eigentliche Zwischenwirt des *Schizotrypanum cruzi*, dessen Entwicklungskreis in einer Periode von ~~10~~⁸ Tagen (im Minimum) abläuft.
3. Können die Flagellaten von *Crithidien*-typus, welche in freilebenden *Conorhinen* vorkommen, Kulturstadien des *Schizotrypanum* darstellen oder ausschliessliche Insektenparasiten sein.
4. Hängt das Auftreten des sexuellen Entwicklungszyklus im Organismus der *Conorhinen* von noch unaufgeklärten Zuständen der Flagellaten im Blute der Wirbeltiere ab.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, unserem Direktor, Herrn Dr. GONÇALVES CRUZ meinen besten Dank auszusprechen. Seiner Leitung verdanke ich die Resultate meiner Untersuchungen.

Auch meinen Lehrern, den Herren Dr. S. von PROWAZEK und Dr. M. HARTMANN, von denen ich bei Vollendung dieser Arbeit vielfache Belehrung erhielt, bin ich sehr dankbar. Auch Herrn Dr. ADOLPH LUTZ, dessen Hilfe mir von grösstem Nutzen war, bin ich bestens verpflichtet.

In der Zone in welcher die neue Krankheitsform herrscht hatte ich beständig als Mitarbeiter Dr. BELISARIO PENNA, dem ich für seine unschätzbare Unterstützung meiner Nachforschungen verpflichtet bin.



2

ESTAMPA 9

TAFEL 9

Fig. 1. *Conorhinus megistus* BURM. transmissor de *Schizotrypanum cruzi*.

Fig. 2. Cabeça do *Conorhinus*, vista de perfil, mostrando a tromba sugadora.

Fig. 3. Último segmento abdominal do ♂.

Fig. 4. Item da ♀.

Nota — Os traços entre os desenhos 3-4 dão os tamanhos naturais dos insetos ♂ e ♀

Fig. 1. *Conorhinus megistus*. BURM. Ueberträger des *Schizotrypanum cruzi*.

Fig. 2. Kopf des *Conorhinus*, im Profil, den Saugrüssel zeigend.

Fig. 3. Letztes Abdominalsegment des ♂.

Fig. 4. Dasselbe des ♀.

Anmerkung — Die Striche zwischen den Zeichnungen 3 und 4 geben die natürliche Grösse beider Geschlechter an.

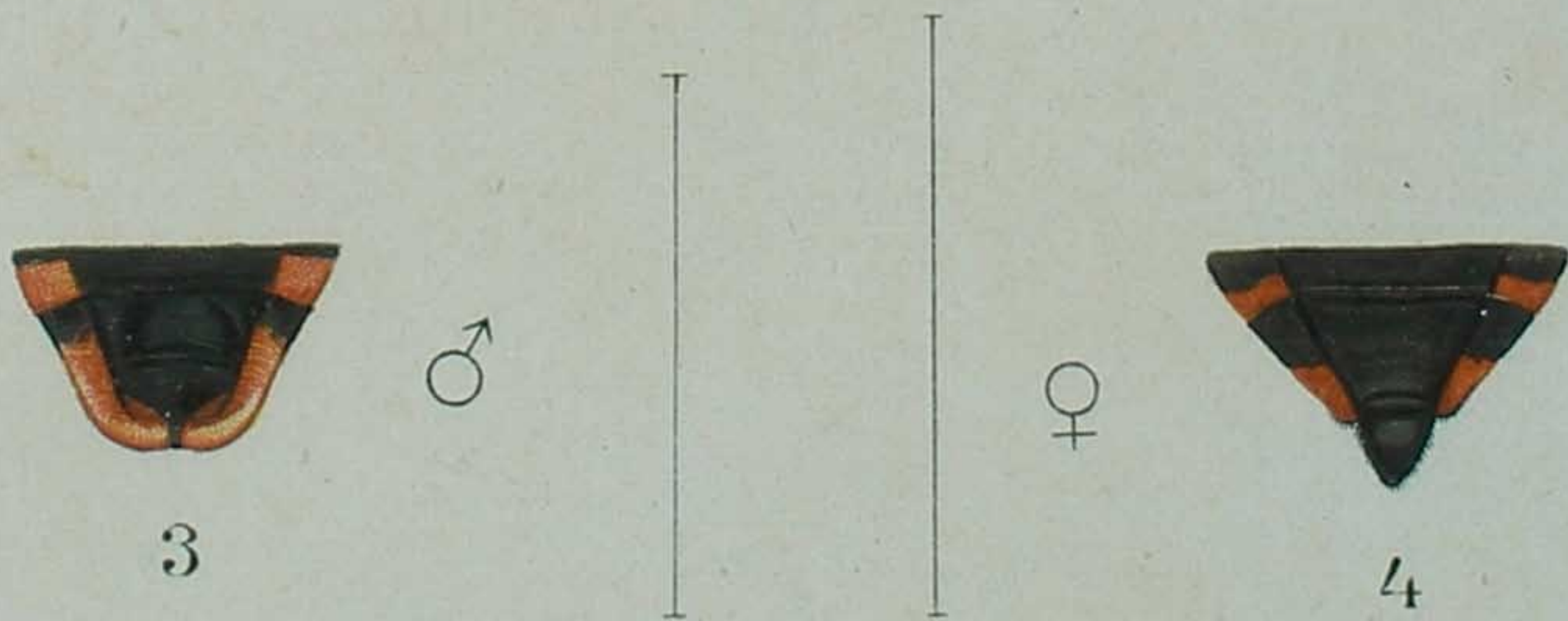
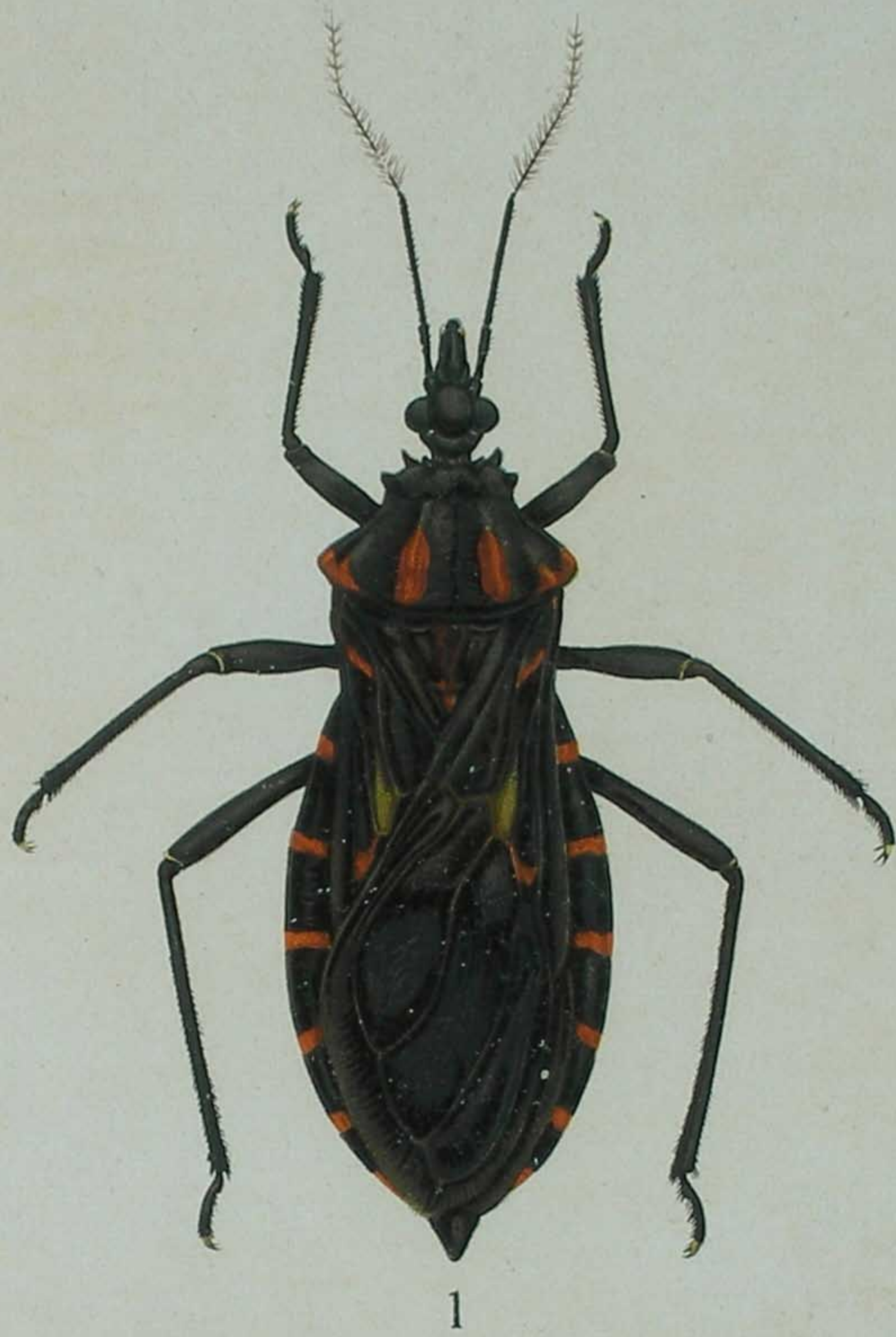


3

♂



4



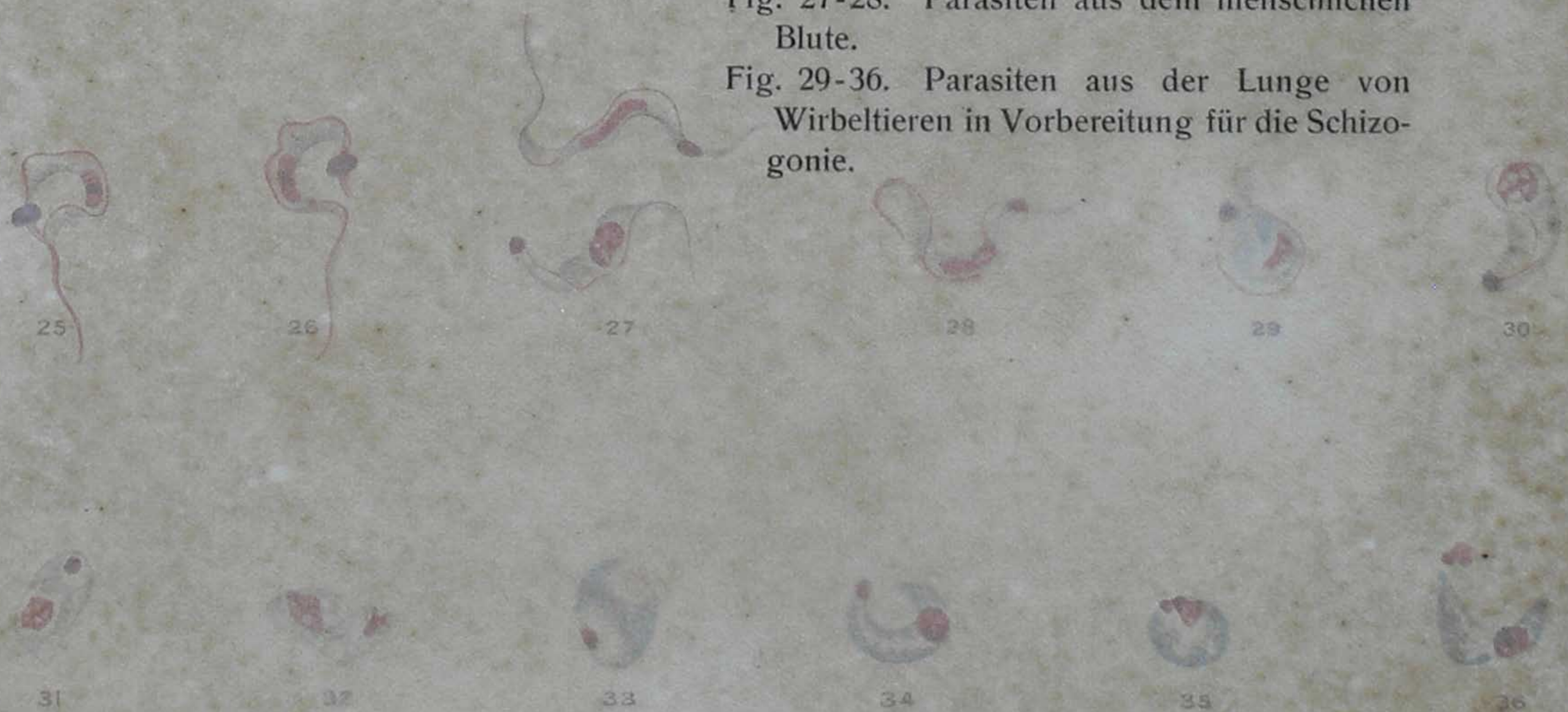


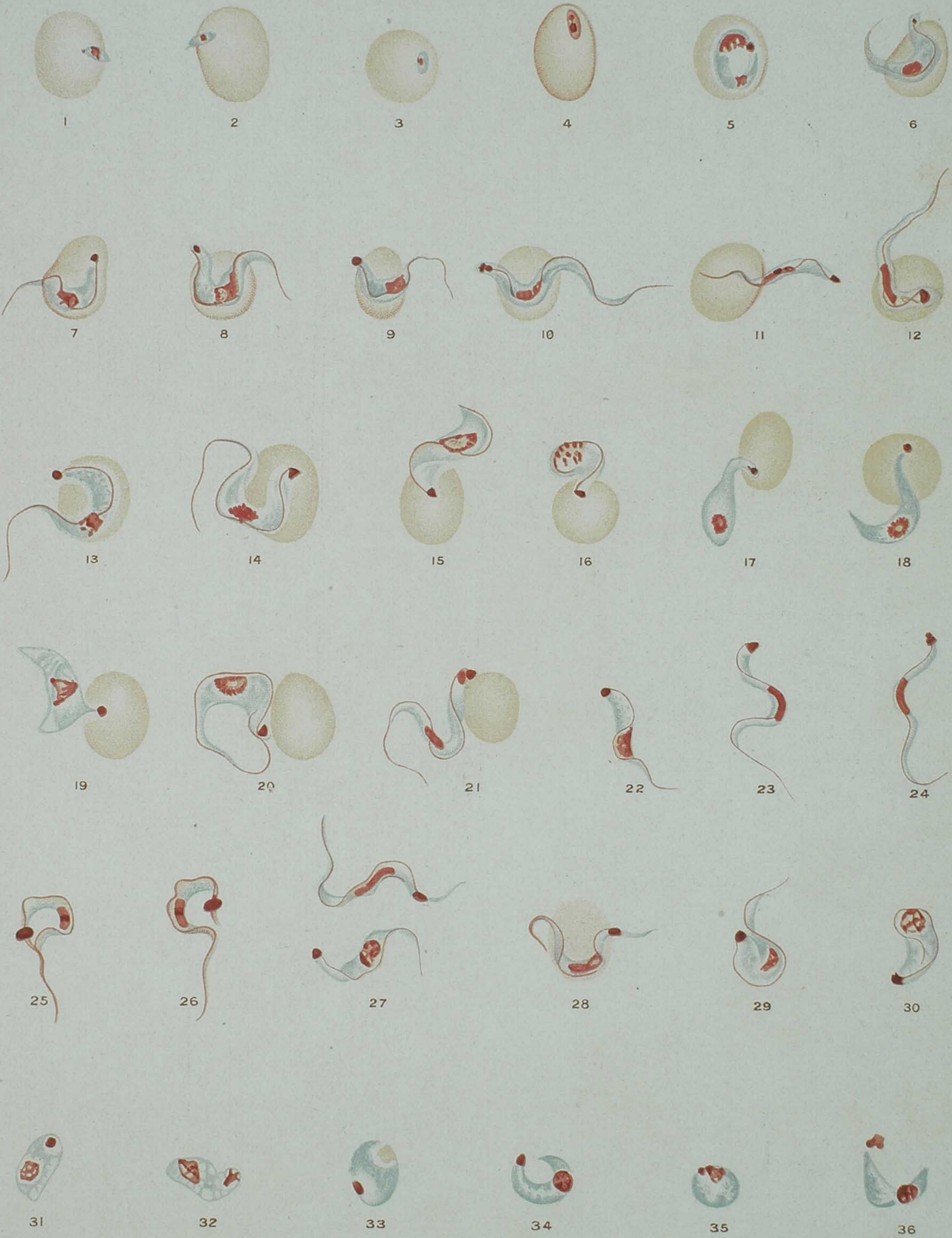
ESTAMPA 10

- Fig. 1-3. Merozoitos nos globulos vermelhos.
 Fig. 4. Merozoitos, mostrando a formação do blefaroplasto.
 Fig. 5. Parasito totalmente incluído na hemácia, sem flajelo e membrana ondulante.
 Fig. 6-19. Parasitos parcialmente incluídos.
 Fig. 20. Parasito femeo livre no plasma.
 Fig. 21. Parasito macho livre no plasma.
 Fig. 22-24. Parasitos novos livres no plasma.
 Fig. 25-26. Flajelados adultos no *Callithrix* inoculado com sangue humano.
 Fig. 27-28. Parasitos do sangue humano.
 Fig. 29-36. Parasitos no pulmão do vertebrado, em preparo para a esquizogonia.

TAFEL 10

- Fig. 1-3. Merozoiten in den roten Blutkörperchen.
 Fig. 4. Merozoit die Bildung des Blepharoplasten zeigend.
 Fig. 5. Vollständig im Blutkörperchen eingeschlossener Parasit, ohne Geißel und undulierende Membran.
 Fig. 6-19. Teilweise eingeschlossene Parasiten.
 Fig. 20. Weiblicher Parasit, frei im Plasma.
 Fig. 21. Männlicher Parasit, frei im Plasma.
 Fig. 22-24. Junge Parasiten, frei im Plasma.
 Fig. 25-26. Erwachsene Parasiten der *Callithrix*, nach Impfung mit menschlichem Blute.
 Fig. 27-28. Parasiten aus dem menschlichen Blute.
 Fig. 29-36. Parasiten aus der Lunge von Wirbeltieren in Vorbereitung für die Schizogonie.





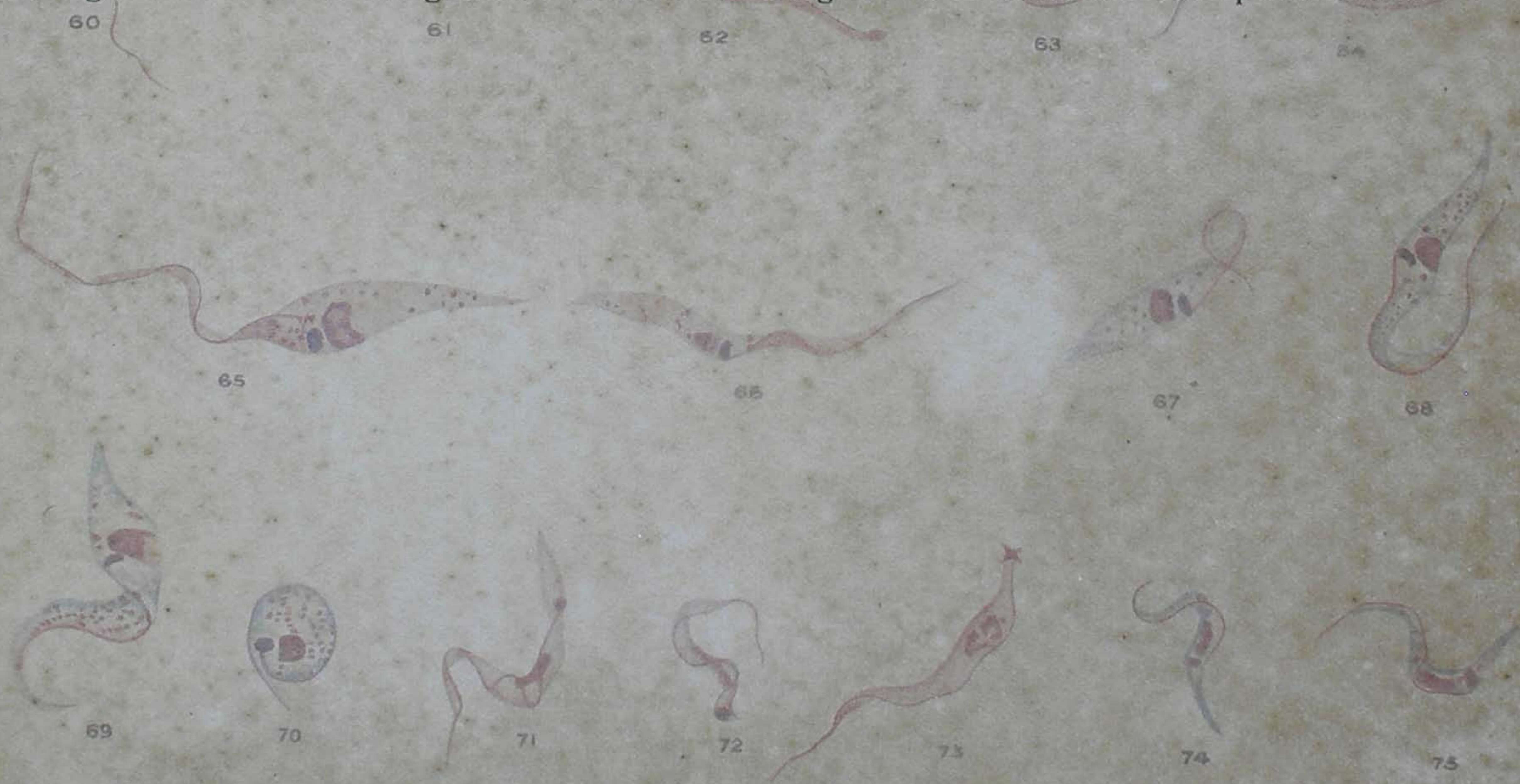


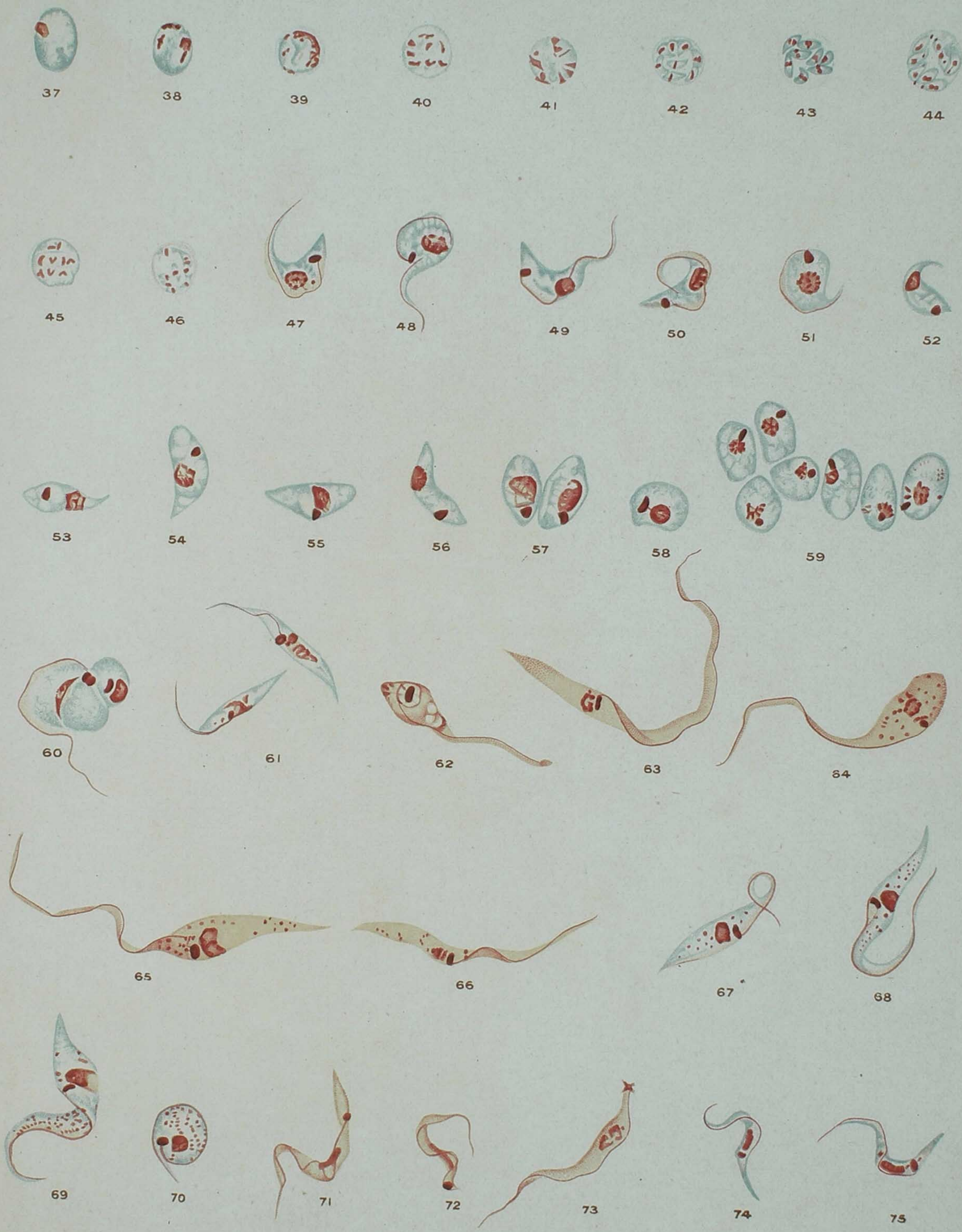
ESTAMPA 11

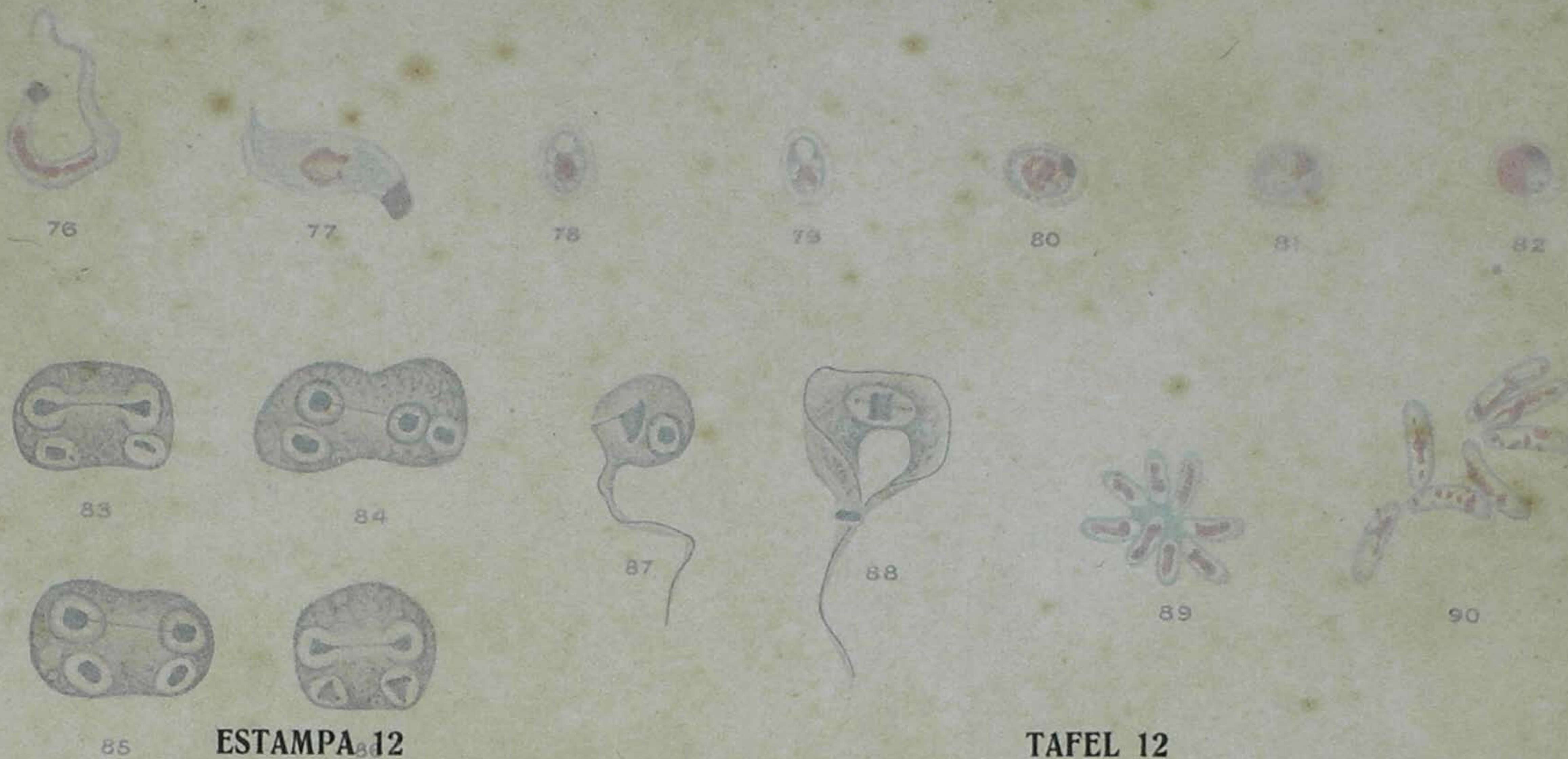
- Fig. 37-39. Fórmas iniciais da esquizogonia.
- Fig. 40-46. Fórmas esquizogônicas no pulmão do vertebrado.
- Fig. 47-60. Fórmas iniciais no intestino médio do *Conorhinus*.
- Fig. 61-70. Fórmas de flajelados do intestino posterior do *Conorhinus*.
- Fig. 71-73. Fórmas da cavidade geral do inseto.
- Fig. 74-75. Fórmas das glandulas salivares.

TAFEL 11

- Fig. 37-39. Anfangsformen der Schizogonie.
- Fig. 40-46. Schizogonieförmern aus der Lunge von Wirbeltieren.
- Fig. 47-60. Initialformen aus dem Mitteldarme von *Conorhinus*.
- Fig. 61-70. Flagellaten aus dem Enddarme des *Conorhinus*.
- Fig. 71-73. Formen aus der Leibeshöhle des Insektes.
- Fig. 74-75. Formen aus den Speicheldrüsen.







ESTAMPA 12

TAFEL 12

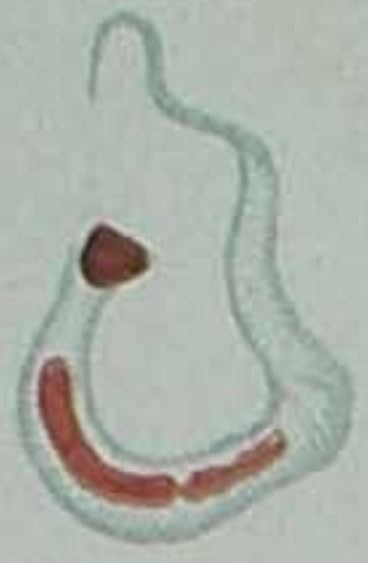
- Fig. 76-77. Fórmãs das glandulas salivares.
 Fig. 78-82. Fórmãs não interpretadas do intestino médio (zigotos?).
 Fig. 83-86. Mitoze do nucleo e do blefaroplasto no intestino médio.
 Fig. 87. Formação do flajêlo. Fórmã do intestino posterior do *Conorhinus*.
 Fig. 88. *Schizotrypanum* no sangue. Mitoze do nucleo.
 Fig. 89-97. Fórmãs encontradas no intestino médio.
 Fig. 98-109. Fórmãs de culturas no meio NOVY e MC. NEAL.

Os dezenhos das estampas 10-11-12 foram feitos com Oc. 5. Obj. $\frac{1}{12}$ im. homoj. Z. de preparados fixados pelo alcool absoluto e coloridos pelo processo de GIEMSA.

- Fig. 76-77. Formen aus den Speicheldrüsen.
 Fig. 78-82. Unbestimmte Formen aus dem Mitteldarme (Zygoten?).
 Fig. 83-86. Mitose von Nucleus und Blepharoplast im Mitteldarme des *Conorhinus*.
 Fig. 87. Bildung der Geissel. Formen aus dem Hinterdarme des *Conorhinus*.
 Fig. 88. *Schizotrypanum* im Blute. Kernmitose.
 Fig. 89-97. Formen aus dem Mitteldarme.
 Fig. 98-109. Formen aus den Culturen nach NOVY und MC. NEAL.

Die Zeichnungen der Tafeln 10-11-12 sind mit Oc. 5. Obj. $\frac{1}{12}$ Oelimm Z. nach mit absolutem Alkohol fixierten und nach GIEMSA gefärbten Präparaten gezeichnet.





76



77



78



79



80



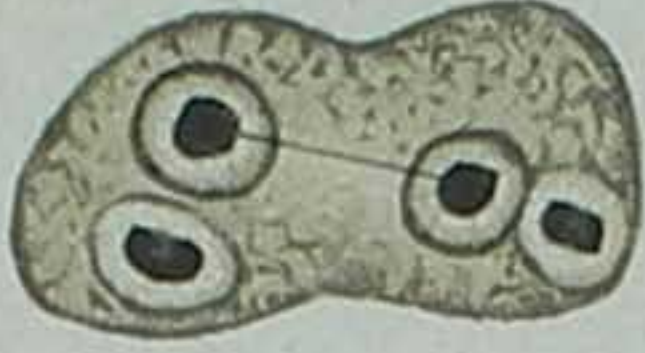
81



82



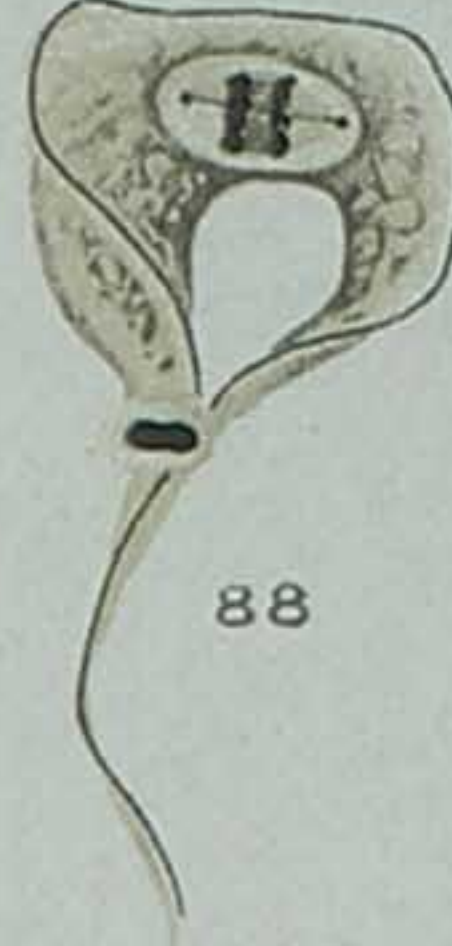
83



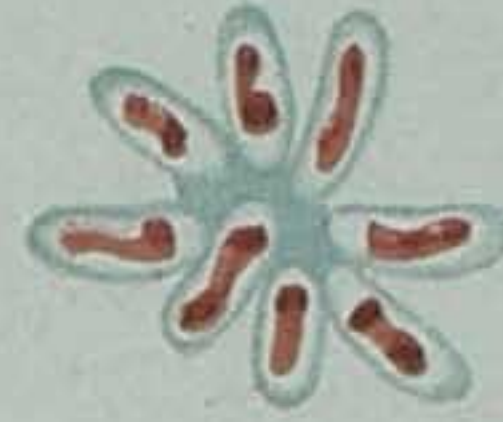
84



87



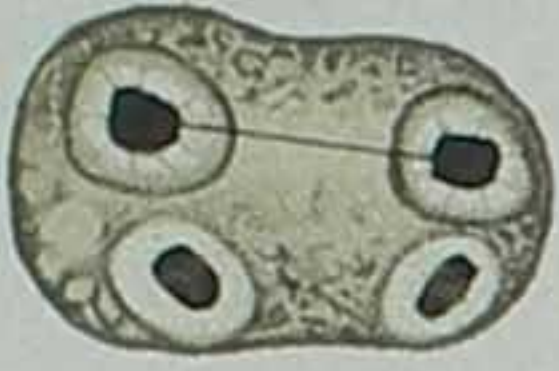
88



89



90



85



86



91



92



93



94



95



96



97



98



99



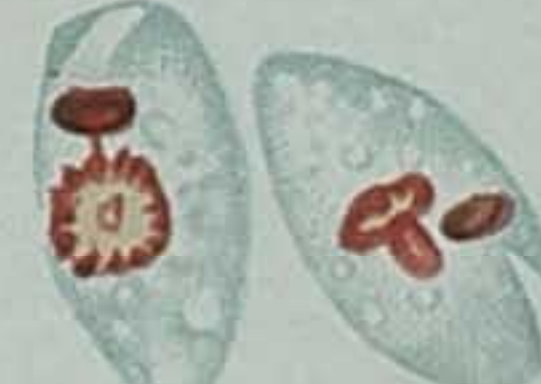
100



101



102



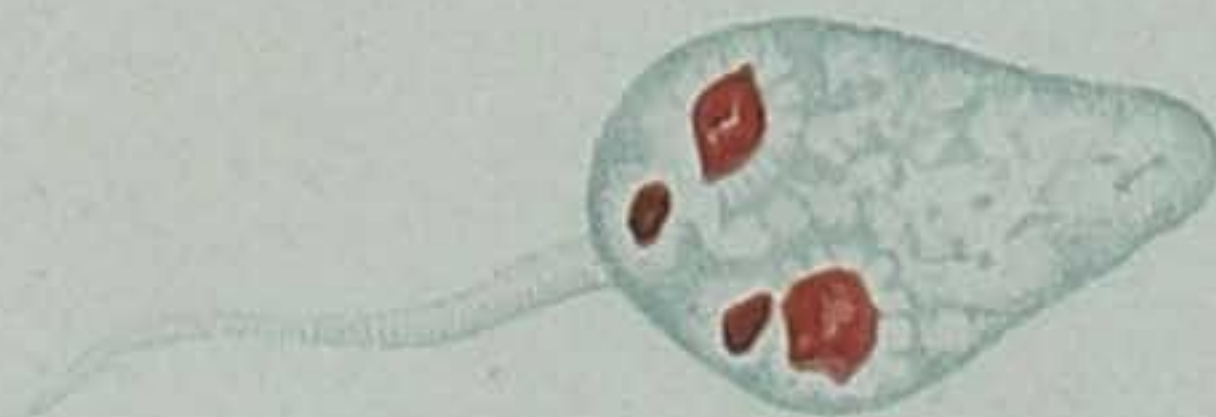
103



104



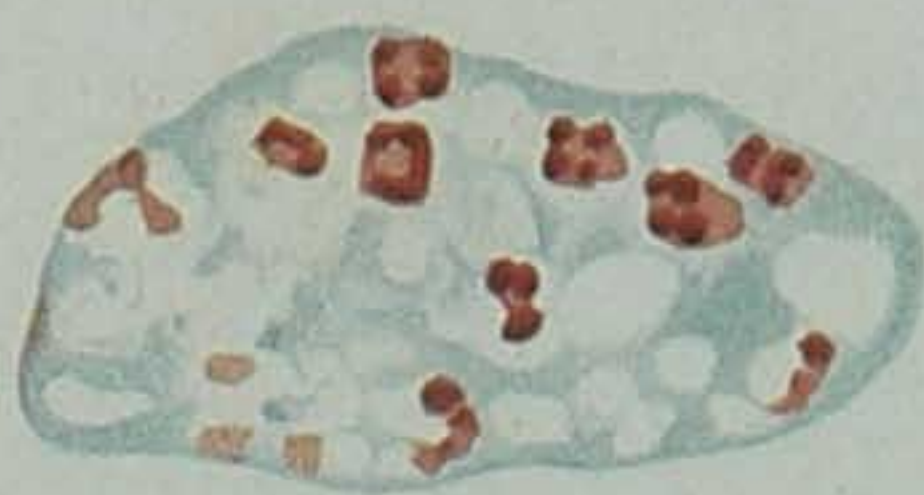
105



106



107



108



109

ESTAMPA 13

Preparados do *Schizotrypanum cruzi*. Fixação á humido pelo sublimado-alcool (SCHAUDINN). Coloração pela hematoxilina ferrea (ROSENBUSCH). Oc. compens. 18. Obj. imm. homoj. 2 mm. Apert. 1.30.

Fig. 1. *Schizotrypanum* no sangue do *Callithrix*. Divisão do cariozoma. Estrutura do blefaroplasto.

Fig. 2-4. Item. Fórmãs machas.

Fig. 5-8. Fórmãs femeas no sangue de cobraia. Divisão do nucleo.

Fig. 9-11-12. Fórmãs do intestino médio do *Conorhinus*. Formação do flajelo.

Fig. 10. Item. Mitoze terminal do nucleo e do blefaroplasto.

Fig. 13-20. Fórmãs do intestino posterior do *Conorhinus*. Estrutura nuclear do blefaroplasto. Centriolo. Corpusculo bazal.

Fig. 21-22. Fórmãs do intestino médio de larva de *Conorhinus*, 21 horas apoz ter sugado animal infetado.

Fig. 23. Fórmãs de cultura em meio NOVY-Mc. NEAL.

Fig. 23a-24. Primeiras modificações do *Schizotrypanum* nas culturas artificiais.

Fig. 25-29. Esquizogonia no pulmão:

Fig. 25. Merozoitos machos.

Fig. 26. Merozoitos femeos.

TAFEL 13

Schizotrypanum cruzi. Die Präparate sind feucht mit Sublimatalkohol (SCHAUDINN) fixiert und mit Eisenhämatoxylin (nach ROSENBUSCH) gefärbt. Comp. oc. 18. Obj. Oelimm. 2 mm. Apert. 1.30.

Fig. 1. *Schizotrypanum* im Blute von *Callithrix*. Teilung des Caryosoms. Struktur des Blepharoplasts.

Fig. 2-4. Item. Männliche Formen.

Fig. 5-8. Weibliche Formen im Blute des Meerschweinchens in Kernteilung.

Fig. 9, 11, 12. Formen aus dem Mitteldarme des *Conorhinus*. Bildung der Geißel.

Fig. 10. Item. Endstadium der Mitose des Nucleus und Blepharoplasten.

Fig. 13-20. Formen aus dem Enddarme des *Conorhinus*. Kernstruktur des Blepharoplasten. Centriol. Basalkörperchen.

Fig. 21-22 — Formen aus dem Mitteldarme der *Conorhinus*larve, 21 Stunden nach Aufnahme von Blut eines inficierten Tieres.

Fig. 23. Formen aus Kulturen nach NOVY und Mc-NEAL.

Fig. 23-24. Erste Veränderungen des *Schizotrypanum* in den Kulturen.

Fig. 25-29. Schizogonie. (Lunge):

Fig. 25. Männliche Merozoiten.

Fig. 26. Weibliche Merozoiten.

