

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO PARA CIÊNCIA

**AS CONTRIBUIÇÕES DE ALBERT CALMETTE PARA O DESENVOLVIMENTO
DA VACINA CONTRA A TUBERCULOSE - BCG (1905-1933): O estudo de um
episódio histórico e o Ensino de Ciências**

KELLY REGINA SILVA CAMPOS

BAURU - SP

2017

KELLY REGINA SILVA CAMPOS

**AS CONTRIBUIÇÕES DE ALBERT CALMETTE PARA O DESENVOLVIMENTO
DA VACINA CONTRA A TUBERCULOSE - BCG (1905 - 1933): O estudo de um
episódio histórico e o Ensino de Ciências**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação para Ciência da Faculdade de Ciências da UNESP-Campus de Bauru, como requisito para obtenção do título de Mestre em Educação para Ciência, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Ana Maria de Andrade Caldeira.

BAURU – SP

2017

Campos, Kelly Regina Silva Campos.

As contribuições de Albert Calmette para o desenvolvimento da vacina contra a tuberculose - BCG (1905-1933): O estudo de um episódio histórico e o Ensino de Ciências / Kelly Regina Silva Campos, 2017
108 f.: il

Orientadora: Ana Maria de Andrade Caldeira

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2017

1. Albert Calmette. 2. Rede de Sociabilidade. 3. História da Ciência. 4. Tuberculose I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE KELLY REGINA SILVA CAMPOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO PARA A CIÊNCIA, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 24 dias do mês de março do ano de 2017, às 14:00 horas, no(a) Sala 03 da Pós-Graduação da Faculdade de Ciências - UNESP/Bauru, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Profa. Dra. ANA MARIA DE ANDRADE CALDEIRA - Orientador(a) do(a) Departamento de Educação / Faculdade de Ciências - UNESP/Bauru, Prof. Dr. JOAO JOSE CALUZI do(a) Departamento de Física / Faculdade de Ciências - UNESP/Bauru, Profa. Dra. LILIAN AL-CHUEYR PEREIRA MARTINS do(a) Departamento de Biologia / Universidade de São Paulo - USP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de KELLY REGINA SILVA CAMPOS, intitulada **"AS CONTRIBUIÇÕES DE ALBERT CALMETTE PARA O DESENVOLVIMENTO DA VACINA CONTRA A TUBERCULOSE - BCG (1905-1933): O estudo de um episódio histórico e o Ensino de Ciências"**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: __ _
__ aprovada __. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. ANA MARIA DE ANDRADE CALDEIRA

Prof. Dr. JOAO JOSE CALUZI

Profa. Dra. LILIAN AL-CHUEYR PEREIRA MARTINS

“Nunca se deve engatinhar quando o impulso é voar.”

Helen Keller

AGRADECIMENTOS

 À professora Ana Maria de Andrade Caldeira, por sua paciência, dedicação e por acreditar em meu trabalho.

 À banca examinadora, composta pelo professor João José Caluzi e pela professora Lílian Al-Chueyr Pereira Martins, pela dedicação, correções e apontamentos valiosos, que contribuíram para elaboração final dessa dissertação.

 Aos meus pais, José Carlos de Campos e Maria Regina da Silva Campos, por sempre investirem e acreditarem em mim. Sem eles eu jamais teria chegado até aqui. Meu sincero muito obrigado.

 Ao meu amor, Luiz Felipe Reversi, por estar sempre ao meu lado, me apoiando e cuidando de mim.

 A todos os meus professores com quem tive o privilégio de conviver, que direta e indiretamente, contribuíram para a elaboração desse trabalho, pelos incontáveis ensinamentos proporcionados.

 Aos meus amigos, que me deram apoio e incentivo nos momentos mais difíceis.

 À CAPES, pelo apoio financeiro.

CAMPOS, Kelly Regina Silva. As contribuições de Albert Calmette para o desenvolvimento da vacina contra a tuberculose - BCG (1905-1933): O estudo de um episódio histórico e o Ensino de Ciências. 2017. 107f. Dissertação (Mestrado em Educação para a Ciência) UNESP – Faculdade de Ciências, Bauru, 2017.

RESUMO

O médico francês Léon Charles Albert Calmette (1863-1933) é conhecido como um dos colaboradores para o desenvolvimento do bacilo nomeado BCG (bacilo Calmette-Guérin), importante na história da medicina por seu possível emprego como vacina contra a tuberculose. O nome do bacilo BCG tem sua origem por causa de seu desenvolvimento em associação com o veterinário francês Jean-Marie Camille Guérin (1872-1961). Nós organizamos as contribuições de Albert Calmette, do período de 1905 a 1933, para o desenvolvimento do bacilo BCG. Para esse propósito, utilizamos os artigos originais publicados por ele. Com esses artigos, nos mostramos as controvérsias e diálogos com outros pesquisadores, integrando uma abordagem internalista e externalista da História da Ciência, realizando uma discussão dos conceitos científicos presentes em seus trabalhos e as influências social, econômica e política do respectivo contexto histórico. Existe uma crença comum entre os alunos de que a Ciência é uma busca solitária e as ideias aparecem espontaneamente na mente dos cientistas. Trata-se de uma percepção estereotipada sobre a natureza da Ciência que procuramos superar, mostrando as pesquisas de Calmette sobre o desenvolvimento do bacilo BCG utilizando uma Rede de Sociabilidade elaborada por nós. Para ilustrar como a Rede de Sociabilidade pode explicar a natureza social da Ciência, delineamos o desenvolvimento do BCG por Calmette e Guérin. Durante este processo, eles contaram com muitos cientistas, como o microbiólogo alemão Emil von Behring (1854-1917) e o veterinário francês Edmond Nocard (1850-1903), revelando que a Ciência não é uma busca solitária. Von Behring, por exemplo, enviou os bacilos da tuberculose bovina usados por Calmette e Guérin, e Nocard forneceu alguma base teórica e material biológico para eles. A Rede de Sociabilidade pode ajudar os alunos a superar suas visões deformadas da Ciência, como a crença de que é uma busca solitária e que as ideias aparecem espontaneamente na mente do cientista, anteriormente mencionadas.

Palavras chaves: Albert Calmette, Rede de Sociabilidade, História da Ciência, Tuberculose.

CAMPOS, Kelly Regina Silva. The contributions of Albert Calmette for the development of the vaccine against tuberculosis - BCG (1905-1933): The study of a historical episode and the Science teaching. 2017. 107f. Dissertation (Master's degree in Science Education) UNESP - Faculty of Sciences, Bauru, 2017.

ABSTRACT

The French doctor Léon Charles Albert Calmette (1863-1933) is known as one of the contributors for the development of the bacillus named BCG (Bacillus Calmette-Guérin), important in medicine history due to its use as a vaccine against tuberculosis. The name bacillus BCG has its origin from its development in association with the French veterinarian Jean-Marie Camille Guérin (1872-1961). We organized the contributions of Albert Calmette, in the period of 1905 to 1933, for the development of de bacillus BCG. For this purpose, we used the original papers published by him. With these papers, we show controversies and dialogues with other researchers, integrating an internalist and externalist approach of the History of Science, by doing a discussion of Scientific concepts within his papers and the social, economical and political influences in the respective Historical context. There is a common belief among students that Science is a solitary pursuit and the ideas appear spontaneously in the scientists' mind. This is a stereotyped perception about the nature of Science that we seek to disavow, showing Calmette's researches about the development of bacillus BCG using a Sociability Network elaborated by us. To illustrate how the Sociability Network can explain the social nature of Science, we delineate BCG's development by Calmette and Guérin. During this process they have counted on many scientists, such as the German microbiologist Emil von Behring (1854-1917) and the French veterinarian Edmond Nocard (1850-1903), revealing the Science isn't a solitary pursuit. Von Behring, for instance, sent the bovine tuberculosis bacilli used by Calmette and Guérin, and Nocard provided some theoretical basis and biological material for them. The Sociability Network can help students to overcome their deformed visions of Science, such as the beliefs that it is a solitary pursuit and that ideas appear spontaneously in the scientist's mind, previously mentioned.

Keywords: Albert Calmette, Sociability Network, History of Science, Tuberculosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Representação das principais ideias acerca da origem da tuberculose pulmonar.....	20
Figura 02: Experimento de infecção de úberes de cabras com culturas de bacilos da tuberculose de origens diversas.....	66
Figura 03: Experimentos com cabritos nascidos de mães com tuberculose de origens diversas.....	69
Figura 04: Conclusões acerca da origem da tuberculose pulmonar.....	71
Figura 05: Experimento sobre a obtenção de imunidade com refeição (ões) de culturas de bacilos virulentos.....	73
Figura 06: Esquema de disposição dos bovinos em experimento sobre contaminação e duração da vacina.....	78
Figura 07: Rede de Sociabilidade sobre a origem da tuberculose pulmonar e os meios iniciais de vacinação.....	91

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
CAPÍTULO 01 – ESTUDOS DE CALMETTE SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO BACILO CALMETTE-GUÉRIN (BCG).....	17
1.1 Origem da tuberculose pulmonar.....	17
1.2 Meios de infecção da tuberculose.....	21
1.3 Mecanismos de infecção da tuberculose pulmonar.....	24
1.4 Testes iniciais para vacinação.....	26
1.5 Meios de diagnóstico da tuberculose.....	32
1.6 Duração e eficácia da vacina.....	34
1.7 Meios de cultivo dos bacilos.....	36
1.8 Novas discussões acerca da tuberculose.....	37
1.9 Hereditariedade e a tuberculose.....	38
1.10 Modificação das propriedades dos bacilos.....	40
1.11 Relação da tuberculose com o homem e outros animais.....	43
1.12 Considerações sobre os bacilos, vacinação e tuberculose.....	47
1.13 Desenvolvimento do BCG.....	54
1.14 Vacinação com BCG.....	60
CAPÍTULO 02 – A CONCEPÇÃO DA VACINA BCG: ASPECTOS METODOLÓGICOS.....	64
CAPÍTULO 03 – BASE METODOLÓGICA E EPISTEMOLÓGICA DA ANÁLISE HISTÓRICA.....	80
3.1 Metodologia da pesquisa em História da Ciência.....	81

3.2	Metodologia de pesquisa em epistemologia.....	82
CAPÍTULO 04 – REDE DE SOCIABILIDADE DE ALBERT CALMETTE.....		86
CAPITULO 05 – O EPISÓDIO HISTÓRICO DE DESENVOLVIMENTO DA VACINA BCG E O ENSINO DE CIÊNCIAS.....		93
5.1	Concepção empírico-individualista e atórica.....	94
5.2	Visão aproblemática e ahistórica.....	95
5.3	Visão acumulativa de crescimento linear.....	97
5.4	Visão individualista e elitista.....	98
5.5	Visão neutra da ciência.....	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....		100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		102

INTRODUÇÃO

A idealização dessa pesquisa surgiu da reflexão sobre a importância das pesquisas do médico francês Albert Calmette (1863-1933) para a compreensão e entendimento da epistemologia do conhecimento científico. Com essa finalidade historicizamos o trabalho desenvolvido por ele.

Nosso trabalho propõe o estudo e discussão de um episódio histórico (desenvolvimento da vacina BCG) que possa ser utilizado no Ensino de Ciências, assim como na formação de professores, a fim de viabilizar a reflexão sobre a natureza da ciência. A abordagem desse tema possibilita também a discussão de diversos mitos construídos sobre a ciência, pois como aborda um episódio do século XX, oportuniza que sejam discutidas as formas de interpretar a ciência e como ela se modifica com o passar dos anos e dos interesses da sociedade.

Como episódio histórico, escolhemos os experimentos e discussões de Albert Calmette acerca do desenvolvimento da vacina contra tuberculose. A escolha por essa temática se deu devido à ausência de trabalhos traduzidos para a língua portuguesa sobre o tema.

De acordo com Jensen, Crevelário e Prestes (2012), a metodologia de pesquisa em História da Ciência deve conceber uma análise e investigação de fontes primárias e secundárias, isto é, os textos originais dos pesquisadores que estão sendo estudados e textos de historiadores da ciência que já se dedicaram ao estudo desses originais. Dessa forma, como existem poucas análises em língua portuguesa sobre o episódio histórico em questão, esse trabalho pode se tornar relevante para contribuir com pesquisas futuras em História da Ciência no país, assim como pode auxiliar que outros públicos tenham acesso a esse conhecimento, como professores de ciências, aos quais o acesso à língua original dos trabalhos de Calmette pode ser dificultada. Devido à obra sobre esse período ser bastante extensa, não abordaremos no presente trabalho as fontes secundárias.

Santos e Caluzi (2005) apontam como um dos equívocos na abordagem do ensino por meio da História da Ciência a abordagem exclusiva dos textos e dados os quais proporcionem a reconstrução da história do conceito em questão, não levando

em consideração os aspectos externos à pesquisa, como por exemplo, os motivos que levaram os cientistas a trabalharem com determinada temática em determinada época, evidenciando a não neutralidade da ciência. Buscaremos superar este tipo de abordagem, abrangendo em nossa análise as questões sociais e históricas do período, integrando uma abordagem externalista e internalista da História da Ciência, uma vez que a integração de ambas nos permite realizar uma análise muito mais ampla.

O emprego da História da Ciência como recurso dentro da sala de aula por si só não resolve todos os problemas relacionados ao Ensino de Ciências, dado que a visão que os professores têm sobre a ciência e a forma como compreendem a natureza desta influenciam na transmissão dos conteúdos.

Meglhioratti, Bortolozzi e Caldeira (2005) apontam que tanto a Filosofia quanto a História da Ciência contribuem para a compreensão e entendimento do caráter que tem o conhecimento científico, uma vez que se trata de um conhecimento produzido pela humanidade, sendo, portanto dinâmico e influenciado pelo meio social ao qual está inserido. Os autores ainda pontuam que a História da Ciência pode auxiliar no entendimento dos processos e mecanismos pelos quais a ciência é elaborada, envolvendo princípios de sua lógica interna e elementos externos que podem intervir nas pesquisas. Para Slongo (2006, p. 13).

Um argumento importante que tem justificado a articulação da História da Ciência ao ensino pretende-se ao fato de que a abordagem histórica, ao explicitar elementos do processo de construção do conhecimento, favorece a compreensão de que a ciência é uma atividade humana em permanente movimento e construção.

Segundo Borges *et al.* (2012), os aspectos históricos do desenvolvimento científico são majoritariamente negligenciados, fato contraditório à importância que essas questões fornecem, uma vez que carregam informações sobre a experimentação, “bem como sobre questões sociais, éticas, políticas e econômicas que influenciam o desenvolvimento do pensamento científico” (Borges *et al.*, 2012, p. 54).

Borges *et al.* (2012) ainda consideram que a utilização da História da Ciência no ensino é uma tendência que vem crescendo, e busca desmistificar alguns mitos concretizados nos dias de hoje pelos alunos, como o da ciência imutável.

Em vista do exposto, o presente trabalho apresenta como objetivo investigar o episódio histórico de criação e desenvolvimento da vacina BCG, analisando artigos publicados por Albert Calmette no período de 1905 a 1933. Os artigos analisados se encontram disponíveis na Biblioteca virtual do Instituto Pasteur da França (acesso pelo link: <https://webext.pasteur.fr/biblio/ressources/histoire/calmette.php>). Além de elaborar uma proposta de Rede de Sociabilidade de Calmette durante uma parte do episódio histórico, que poderá ser utilizada para uma abordagem do tema no Ensino de Ciências, utilizando a História da Ciência como ferramenta que oportuniza a desconstrução de algumas visões deformadas da natureza da ciência.

Como objetivos específicos elencamos:

- organizar cronologicamente as contribuições de Albert Calmette para a vacina BCG no período de 1905 a 1933;
- identificar alguns passos metodológicos conduzidos pelo autor;
- construir uma Rede de Sociabilidade acerca do desenvolvimento da vacina BCG a partir das pesquisas publicadas por Calmette;
- propor uma forma de abordagem da História da Ciência baseada no uso de Redes de Sociabilidades e suas potencialidades para o ensino de Ciências.

Buscando atender aos objetivos elencados, o primeiro capítulo abordará as contribuições de Albert Calmette e colaboradores, durante o período de 1905 a 1933, para o desenvolvimento do bacilo BCG. Essas contribuições vão desde seus estudos iniciais sobre a origem da tuberculose pulmonar, discutindo as ideias presentes no período acerca dessa origem, e as controvérsias acerca das hipóteses da origem intestinal ou respiratória, além da apresentação de alguns pesquisadores que defendiam cada uma das ideias e como essa divergência do período influenciou os trabalhos de Calmette e colaboradores. Além disso, também são abordadas as pesquisas sobre os meios de infecção da tuberculose, enfocando na infecção via intestinal e em como ela ocorre e quais as condições de ingestão do bacilo para que

a infecção seja promovida. Além disso, também aborda os mecanismos de infecção pelo trato intestinal propostos por Calmette, os testes de vacinação com bovinos e atenuação dos bacilos, assim como as condições necessárias para que uma infecção ocorra e os meios mais eficazes de promover a infecção. As formas de atenuação de bacilos, os meios de diagnóstico da tuberculose, duração e eficácia da vacina também são abordados. E por fim a relação da tuberculose e a hereditariedade e da mesma com os homens e outros animais, sua distribuição pelo mundo, o desenvolvimento do BCG e finalmente a sua utilização como vacina.

Todos os textos utilizados foram escritos por Albert Calmette, alguns foram resultados de trabalhos que o pesquisador fez sozinho, outros foram trabalhos realizados com colaboradores, como Camille Guérin e alguns alunos de Calmette. Esses textos são todos originais, portanto, a maioria está escrito na língua materna do pesquisador, o francês, mas existem alguns dos trabalhos escritos em inglês.

O segundo capítulo descreverá alguns passos metodológicos seguidos pelo pesquisador, assim como narrará alguns experimentos que o levou, juntamente com Guérin, ao desenvolvimento do bacilo BCG. A descrição desses passos metodológicos e experimentos visa mostrar quais foram as etapas de pesquisas seguidas pelo pesquisador, com a utilização de diagramas sobre alguns experimentos, visando facilitar o entendimento e compreensão, visto que a descrição de algumas delas pode ser demasiado longa, por conter muitas etapas.

Dentre os experimentos que serão descritos temos as realizadas para averiguar a origem da tuberculose pulmonar, assim como aquelas realizadas para verificar se havia a eliminação de bacilos no leite materno, utilizando cabras tuberculosas. Assim como os experimentos realizados para saber se a tuberculose pulmonar poderia ocorrer via infecção intestinal apenas com os bacilos ou se também ocorreria com produtos tuberculosos. Além disso, também serão abordados os experimentos para verificar se a infecção por tuberculose seria resultado de uma infecção ocorrida na infância, a obtenção de uma possível imunidade por meio de refeições infectantes e o tempo de duração dessa imunidade.

Por fim, nesse capítulo também serão retratadas os experimentos realizados para garantir a infecção artificial em testes de vacinação, para averiguar o tempo em

que os bacilos permaneciam no organismo após a vacinação e a ocorrência da eliminação desses bacilos nas fezes.

O terceiro capítulo abordará a descrição de um trabalho em História da Ciência segundo Martins (2005), também caracterizará os referenciais teóricos de análise histórica e epistemológica utilizados para abordar e caracterizar o primeiro capítulo. Explicaremos de forma sucinta sobre a base metodológica escolhida para ser utilizada na interpretação da História da Ciência, a visão internalista e a visão externalista, assim como a base epistemológica, pautada na filosofia da ciência de Karl Popper sobre a demarcação do que é e o que não é ciência e como ocorre o desenvolvimento do conhecimento científico, processo que ele chamou de conjecturas e refutações.

O quarto capítulo irá propor um modelo de construção de uma Rede de Sociabilidade baseada em uma sequência lógico-histórica, elencando como essa metodologia propõe a seleção das partes essenciais daquelas não essenciais do período histórico, dando como exemplo a construção de um modelo para alguns eventos do período de desenvolvimento da vacina.

Finalmente, o quinto capítulo abordará como o exemplo da Rede de Sociabilidade de Calmette durante o desenvolvimento da vacina, por meio da História da Ciência, pode contribuir para o ensino de ciências em relação à superação de visões deformadas da natureza da ciência.

CAPÍTULO 01 - ESTUDOS DE CALMETTE SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO BACILO CALMETTE-GUÉRIN (BCG)

O médico Léon Charles Albert Calmette (1863-1933) nasceu em Nice, na França (Hawgood, 1999 & Hawgood, 1999). É um dos colaboradores para o desenvolvimento do bacilo nomeado BCG (bacilo Calmette-Guérin), importante na história de combate à tuberculose por seu possível emprego como vacina (Sakula, 1983), mas não dedicou seus estudos apenas à tuberculose. Possui publicações em diferentes áreas, como em parasitologia, bacteriologia, doenças tropicais, tratamento de água, fermentação industrial e veneno de cobras. O bacilo BCG foi desenvolvido em parceria com veterinário francês Jean-Marie Camille Guérin (1872-1961).

1.1 Origem da tuberculose pulmonar

Um dos primeiros questionamentos de Calmette e Guérin acerca da tuberculose foi com relação a sua origem, uma vez que havia uma divergência entre os cientistas da época. Os resultados de seus estudos iniciais foram apresentados em três memórias. Na primeira delas (Calmette & Guérin, 1905) foi mostrada a existência desse debate sobre a origem da tuberculose pulmonar entre os cientistas do período, pois durante o Congresso de Cassel, no ano de 1903, o microbiologista alemão Emil von Behring (1854-1917) emite sua opinião de que considerava que a tuberculose pulmonar em adultos era de origem intestinal e quase sempre resultado de uma infecção que tivesse ocorrido na infância. A ideia geralmente aceita no período era que a origem da tuberculose pulmonar acontecia no trato respiratório. O médico alemão Albert Fraenkel (1864-1938), que defendia essa hipótese, promoveu protestos contra a tese de von Behring.

Para Calmette e Guérin (1905), a experimentação poderia resolver essa dúvida e ambos se comprometeram a estudar essa questão. Escolheram como animal de experimentação a cabra, pois esta possuía uma conhecida resistência natural à infecção por tuberculose. A proposta foi que se observasse nesse animal,

em indivíduos de idades jovem e adulta, os efeitos da ingestão e introdução de produtos tuberculosos de origens diversas. A cultura de bacilos da tuberculose de origem bovina utilizada foi enviada aos pesquisadores por von Behinrg em 1902 (Calmette & Guérin, 1905).

Por meio dos experimentos¹ de infecção artificial dos úberes das cabras, Calmette e Guérin (1905) observaram que as culturas de bacilos da tuberculose de origem bovina introduzidas no úbere das cabras apresentavam uma virulência extrema e causavam uma morte rápida, não havendo extensão das lesões para outros órgãos além do infectado. As culturas de bacilos de tuberculose de origem humana, introduzidas sob as mesmas condições, não eram virulentas e produziam distúrbios locais que cicatrizam lentamente. Já as culturas de bacilos da tuberculose de origem aviária eram aparentemente inofensivas para as glândulas mamárias das cabras. Para os pesquisadores seria possível utilizar esse modo artificial de infecção do úbere da cabra para o diagnóstico de bacilos de tuberculose de origem bovina, humana ou desconhecida, uma vez que as reações geradas pela introdução de bacilos de origens diferentes eram variadas (Calmette & Guérin, 1905). É possível depreender que surge nesse momento, um meio rudimentar de identificação da proveniência dos diferentes tipos de bacilos da tuberculose por meio da infecção artificial de úberes de cabra, dado que para cada origem diferente de cultura, uma reação distinta era produzida.

Os experimentos² realizados com filhotes de cabras infectados artificialmente com culturas de bacilos da tuberculose de origens bovina, humana, aviária ou pseudo-tuberculose³ mostraram que esses animais reagiam violentamente contra a infecção intestinal e em todos os casos eram encontradas lesões adenopáticas mesentéricas, mas apenas a infecção por bacilos da tuberculose de origens bovina e humana levava à formação de lesões tuberculosas nos gânglios. A infecção com bacilo da tuberculose de origem bovina era muito mais grave e se propagava pelos pulmões. Com o bacilo de origem humana, as lesões tendiam a se curar muito rapidamente e no local ocorria uma calcificação. Verificava-se uma reação defensiva

¹ Esses experimentos estão mais detalhados no capítulo 02.

² A descrição desses experimentos se encontra no capítulo 02.

³ A pseudo-tuberculose é uma doença cujos patógenos são bactérias do tipo bacilo Gram-negativo. Roedores e aves selvagens são considerados como vetores de transmissão para o ser humano. É considerada uma doença com alta taxa de mortalidade.

dos linfonodos com o bacilo de origem aviária, sendo na grande maioria das vezes destruído no local por leucócitos (Calmette & Guérin, 1905).

Em outra série de experimentos realizados com cabritos nascidos de mães saudáveis, porém infectados diretamente no aparelho digestivo, mais especificamente no rúmen, por meio de uma sonda e com culturas de várias origens (bovino, humano, aviário e pseudo-tuberculose), Calmette e Guérin (1905) perceberam que a ingestão de pequenas quantidades de bacilos da tuberculose de origem bovina era suficiente para causar adenopatia⁴ mesentérica grave com a formação de tubérculos que evoluíam rapidamente. A partir do momento que esses tubérculos começavam a se formar, lesões tuberculosas apareciam nos pulmões e em seguida nos gânglios linfáticos do mediastino posterior. Essa tuberculização pulmonar ocorria secundariamente e os linfonodos mesentéricos não eram suficientes para reter os bacilos da tuberculose e evitar que eles fossem atraídos para a circulação linfática. Além disso, a ingestão de uma pequena quantidade de bacilos de tuberculose de origem humana parecia inofensiva para os cabritos, mas não era o bastante para vacinar contra os efeitos da ingestão subsequente de bacilos de origem bovina (Calmette e Guérin, 1905).

A ingestão de bacilos de origem aviária e da pseudo-tuberculose também era inofensiva, sendo capaz apenas de produzir uma adenopatia mesentérica, não originária de um meio normal de defesa do organismo contra infecções derivadas do intestino. Novamente, a ingestão desses bacilos se mostrou incapaz de oferecer qualquer resistência contra a tuberculose bovina. Calmette e Guérin (1905) encontraram a partir desses experimentos uma confirmação para a tese de von Behring, a qual a tuberculose pulmonar era de origem intestinal, em todas as circunstâncias vistas pelos pesquisadores. Tal fato aconteceu em consequência das lesões tuberculosas não terem sido encontradas nos animais testados quando injetado culturas de bacilos da tuberculose de diversas origens diretamente em seus úberes. O mesmo não ocorreu quando os bacilos foram injetados diretamente no aparelho digestivo, nesse caso, houve a formação lesões tuberculosas.

A figura 01 representa um diagrama sobre as principais ideias da origem da tuberculose pulmonar.

⁴ Adenopatia é o aumento do tamanho de alguns gânglios linfáticos.

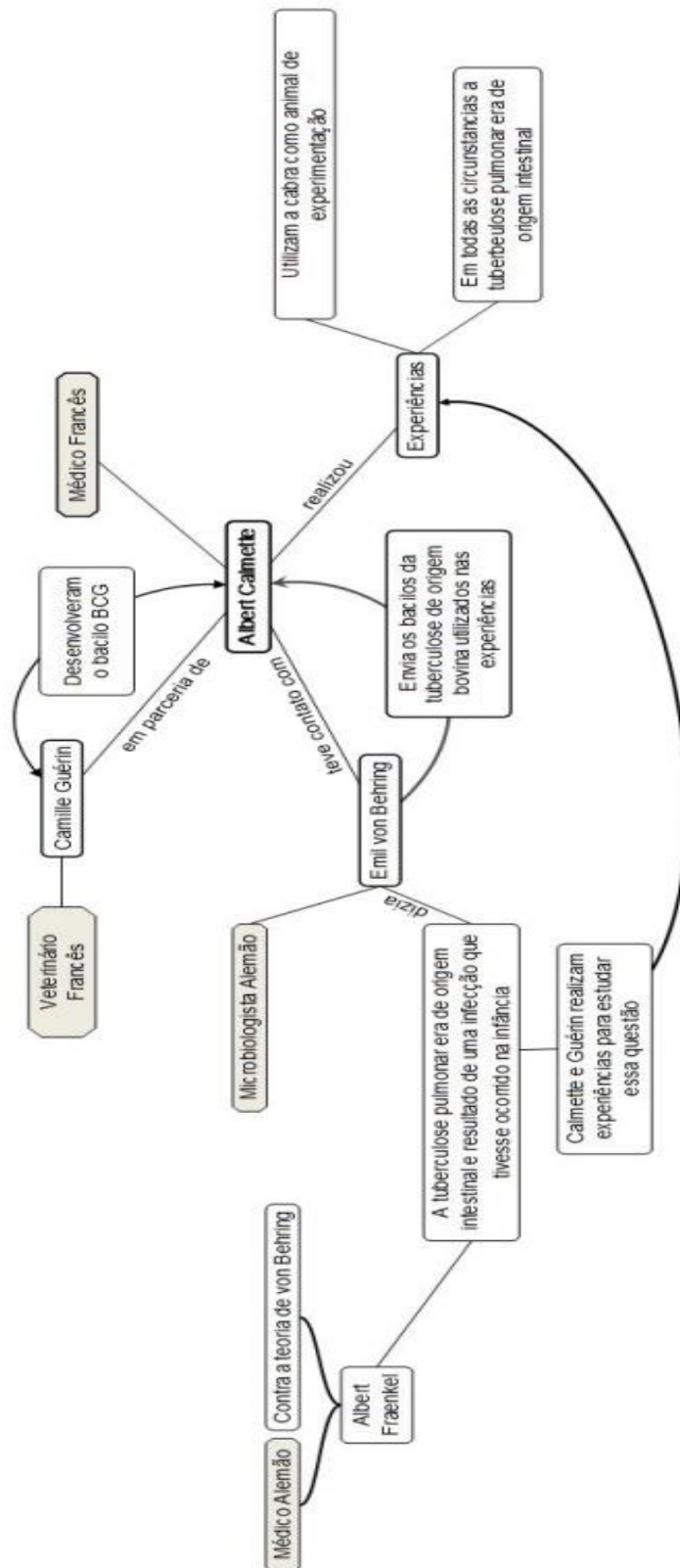


Figura 01: Representação das principais ideias acerca da origem da tuberculose pulmonar.

1.2 Meios de infecção da tuberculose

Alguns pesquisadores do período relataram que as carnes bovina, de porco, cachorro, gato, coelho e macaco podiam ser infectadas com culturas de bacilos da tuberculose de origem bovina ou humana (Calmette & Guérin, 1905). O veterinário francês Jean-Baptiste Auguste Chauveau (1827-1917) publica um trabalho⁵ em 1869 relatando que o intestino humano era análogo ao bovino, pois poderia ser um agente de contágio para a propagação da tuberculose. Esse fato foi anteriormente mostrado pelos experimentos de Calmette e Guérin (1905). Por outro lado, pesquisadores como o patologista alemão David Paul von Hanseman (1858-1920) não concordavam que a ingestão de fragmentos de tecidos virulentos pudesse produzir a infecção. Von Hanseman mencionou também que não haviam sido observados casos genuínos de infecção pelo trato intestinal que levaram a tuberculose pulmonar (Calmette & Guérin, 1905), contradizendo as pesquisas de Calmette e Guérin realizadas até o momento.

Os próprios pesquisadores (Calmette & Guérin, 1905) realizaram experimentos para verificar se a tuberculose pulmonar poderia ser contraída pela ingestão de produtos tuberculosos. Para tal, utilizaram quatro caprinos adultos saudáveis e uma grande quantidade de bacilos da tuberculose de origem bovina entre duas fatias de pão, semelhante a um sanduíche. Esse sanduíche foi dado como alimento aos animais. Dois meses depois da ingestão, os caprinos foram submetidos ao teste da tuberculina⁶ e não houve nenhuma reação. Os animais foram sacrificados e a autópsia não revelou nenhuma lesão tuberculosa.

Por meio desses experimentos, os cientistas obtiveram a confirmação da tese de von Behring, relatando que as lesões tuberculosas observadas em animais adultos nada mais eram do que resultado da evolução tardia de lesões ocorridas na infância e derivados de uma infecção intestinal antiga (Calmette & Guérin, 1905), uma vez que a ingestão de uma grande quantidade de bacilos, nas condições acima descrita, não resultou no surgimento de lesões nos pulmões dos animais adultos.

⁵ Bull, Acad. de méd., XXXIII, Rec. de méd vétér. 1869, p. 202.

⁶ A tuberculina é um derivado proteico purificado obtido por meio de células mortas. Atualmente o teste da tuberculina também pode ser chamado de PPD (Purified Protein Derivative).

Calmette e Guérin (1905) também introduziram bacilos da tuberculose de origem bovina diretamente no rúmen de cabras adultas por meio de uma sonda. Perceberam que sob essas condições os animais se tornaram tuberculosos. As lesões tuberculosas ocorriam rapidamente, sendo que os bacilos não deixavam quase nenhum traço da sua passagem pelo sistema linfático do intestino. Dessa forma, eles concluíram que animais adultos podiam contrair facilmente tuberculose a partir do trato gastrointestinal quando ingerissem bacilos virulentos de tuberculose dispersos em líquido e que esses bacilos passavam pela mucosa intestinal sem produzir lesões. Assim, a tese anteriormente aceita de von Behring acaba sendo refutada, já que foi possível aos pesquisadores infectarem artificialmente com tuberculose animais adultos, desde que a introdução dos bacilos atendessem aos requisitos supracitados. Von Behring, por outro lado, descrevia que a tuberculose em adultos era resultado de uma infecção ocorrida na infância.

Os bacilos da tuberculose penetravam nos vasos linfáticos do intestino, sendo transportados em seguida pela linfa para o canal torácico e para a veia subclávia esquerda e posteriormente para a parte direita do coração, onde eram lançados por meio da artéria pulmonar para a rede capilar do pulmão. Mediante essa observação, Calmette e Guérin (1905) inferiram que na maioria dos casos a tuberculose pulmonar não era contraída por inalação, mas por ingestão de bacilos ou produtos tuberculosos e que sua origem, assim como pensava von Behring, se dava pela penetração do bacilo da tuberculose pelo trato gastrointestinal. Todavia, foram levados a rejeitar a outra afirmação de von Behring, anteriormente aceita, de que a tuberculose adulta resultava da evolução tardia de uma infecção intestinal contraída na infância (Calmette & Guérin, 1905; Calmette & Guérin 1906a), conforme já explicitado anteriormente.

A introdução de bacilos a partir do trato digestivo foi realizada com maior facilidade pela circulação linfática do mesentério, sem que ocorresse lesão no intestino. Pacientes com tuberculose pulmonar engoliam seus bacilos e eram constantemente reinfectados, produzindo novos tubérculos nas porções livres do pulmão (Calmette & Guérin, 1905). Dessa forma, Calmette e Guérin (1905) consideravam essencial monitorar os pacientes com lesões tuberculosas quando estes comesçassem a evacuar bacilos, com a finalidade de evitar que houvesse a

ingestão destes nos indivíduos que estivessem com tosse com expectoração. Os pesquisadores recomendavam a lavagem da boca com água fervida ou filtrada antes de cada refeição e se possível após cada expectoração (Calmette & Guérin, 1905). Iniciam, com essas recomendações, algumas formas de profilaxia da tuberculose propostas pelos pesquisadores.

Calmette e Guérin (1905) apontavam como exagerada a propaganda que circulava no período sobre as formas de contração da tuberculose, especialmente com relação à inalação de poeira. Eles não descartavam que tal poeira pudesse ser infecciosa, mas não porque era respirada, mas sim porque era engolida, dado que os experimentos realizados pelos pesquisadores até o momento mostravam que a tuberculose era contraída quando ingeridos, em algumas condições, bacilos virulentos.

Esses foram os experimentos e conclusões de Calmette e Guérin (1905) em sua primeira memória sobre a tuberculose. No ano seguinte, em 1906, eles publicaram a segunda memória, em que também dissertaram sobre a origem intestinal da tuberculose pulmonar e os mecanismos de infecção. Os pesquisadores viram a necessidade de repetir os experimentos de infecção por meio do trato digestivo com bovinos adultos, a fim de se verificar quando apareciam as lesões pulmonares.

Em sua segunda memória (Calmette & Guérin, 1906a), os cientistas realizaram experimentos para se certificar de que a infecção da tuberculose a partir do trato digestivo raramente ocorria devido à ingestão de fragmentos de órgãos tuberculosos, como no experimento com o sanduíche de bacilos. Quando os resultados obtidos eram contrários, era atribuído o resultado a falhas nos experimentos. Em bovinos, o consumo espontâneo de líquido infectado, tomado em um balde, por exemplo, não era uma maneira eficaz de contaminação, uma vez que o líquido absorvido caía no rúmen e sofria os efeitos dos sucos digestivos e fermentações microbianas, os quais tinham um papel desfavorável na conservação e vitalidade dos bacilos da tuberculose (Calmette & Guérin, 1906a).

De uma forma resumida, com seus experimentos⁷, Calmette e Guérin (1906a) concluíram que os animais utilizados nos experimentos contraíam tuberculose facilmente a partir do trato intestinal, tanto na infância, quanto na fase adulta, sem que os bacilos tivessem passado por lesões visíveis nas paredes do trato digestivo. Também perceberam que nos animais jovens, os bacilos eram normalmente retidos pelos linfonodos mesentéricos. Às vezes, a infecção continuava localizada lá por um longo período e eventualmente se curava; por vezes, levava à formação de tubérculos (Calmette & Guérin, 1906a).

Nessa mesma memória, os pesquisadores expuseram que a tuberculose pulmonar, dita primitiva⁸, era mais frequente ser de origem intestinal e que, de todos os meios de contaminação, a infecção pelo tubo digestivo era eficaz e a mais consistente com as condições normais de infecção natural (Calmette & Guérin, 1906a).

1.3 Mecanismos de infecção da tuberculose

Em um primeiro momento, parecia difícil poder conciliar a localização frequente da infecção da tuberculose nos pulmões e a escassez de lesões intestinais com as descobertas feitas por Calmette e Guérin (1905, 1906a) sobre a origem intestinal da tuberculose pulmonar. Em vista disso, os pesquisadores se preocuparam em pesquisar sobre os mecanismos de infecção da tuberculose, a fim de se averiguar o exato papel do pó, seco ou molhado, contendo bacilos da tuberculose e a real capacidade destes em penetrar nas células por meio do ar inspirado e causar lesões. Suas conclusões foram publicadas em sua terceira memória.

A maioria das pesquisas da época, como as do pesquisador alemão George Cornet (1858-1915) e dos veterinários franceses Edmond Nocard (1850-1903) e Hyppolyte Rossignol (1837 -1919) sugeriam que o modo de infecção mais comum da tuberculose era pelo trato respiratório, uma vez que a inalação de materiais

⁷ Esses experimentos estão mais detalhadas do capítulo 02.

⁸ Os autores classificam como tuberculose primitiva aquela contraída espontaneamente por meio de vias naturais, ou seja, não inoculadas em situações controladas de laboratório.

tuberculosos sob a forma de pó seco ou de líquidos com partículas finas em suspensão causava a infecção, de acordo com experimentos realizados pelos mesmos (Calmette & Guérin, 1906b). O patologista alemão Otto Lubarsch (1860-1933) também concordava com a teoria acima, e embora reconhecesse a origem digestiva, ainda defendia que bacilos da tuberculose entravam por via aérea, ganhavam os alvéolos até o tecido peribrônquico, atingindo o sistema linfático, onde eram difundidos, após um tempo variável, na corrente sanguínea. A visão de Lubarsch era aceita pela maioria dos patologistas, como pelo alemão Georg Eduard von Rindfleisch (1836-1908), e pelo francês Louis-Antoine Ranvier (1835-1922) (Calmette & Guérin, 1906b).

Esses fatos acima citados contradiziam os resultados observados experimentalmente pelos pesquisadores, pois mesmo a infecção pulmonar era realizada por meio de uma sonda gástrica com uma refeição infectada com bactérias da tuberculose bovina. Se a quantidade de bacilos absorvidos pelo intestino fosse considerável, logo apareceria em toda a extensão de ambos os pulmões, pequenos tubérculos translúcidos. Bovinos jovens que fizeram apenas uma única refeição infectante sempre respondiam à tuberculina (Calmette & Guérin, 1906b).

Os resultados experimentais observados por Calmette e Guérin (1906b) os levaram a afirmar que o mecanismo de infecção que gerava tubérculos resultava da ingestão de bacilos virulentos da tuberculose, contradizendo os pesquisadores que afirmavam que a infecção se dava por meio do trato respiratório. Tal fato fez com que estudassem e compreendessem o mecanismo de defesa natural e de vacinação contra tuberculose, como veremos mais adiante.

Calmette e Guérin dedicaram alguma atenção aos estudos dos pesquisadores Edmond Nocard e Hyppolyte Rossignol, os quais afirmavam terem falhado quase todas às vezes em seus testes de contaminação de gado por meio do trato digestivo. “A causa dessas falhas reside claramente no procedimento adotado”⁹ (Calmette & Guérin, 1906b, pág. 614). Nocard e Resignol ainda afirmavam terem conseguido reproduzir a infecção por meio da inspiração de pó infectado, conjectura refutada por Calmette e Guérin, os quais defendiam que a infecção tinha se dado pela ingestão desse pó. Os pesquisadores se convenceram da extrema dificuldade de penetração

⁹ Todas as traduções presentes do texto foram feitas pela autora a partir do original em francês.

dos bacilos diretamente pelo trato respiratório, relatando que quando a mucosa traqueal se encontrava saudável, a infecção por essas vias quase nunca era bem sucedida. Isso foi confirmado por experimentos realizados durante dois anos sobre a origem intestinal da tuberculose pulmonar (Calmette & Guérin, 1906c).

1.4 Testes iniciais para vacinação

A constatação dos fatos acima mencionados levou os pesquisadores a considerar a possibilidade de vacinar animais sensíveis à infecção natural da tuberculose pelo trato digestivo, fazendo-os absorver bacilos atenuados. Guiados pelos trabalhos anteriores, iniciaram a vacinação de bovinos jovens por meio de sonda esofágica, utilizando bacilos da tuberculose de origem humana. O processo foi repetido duas vezes e conferiu certa imunidade aos bovinos contra bacilos da tuberculose de origem bovina, em doses que causariam a doença em um grupo controle¹⁰ (Calmette & Guérin, 1906c).

Tal método não era aceitável, em vista de requerer a utilização de bacilos virulentos para os seres humanos, extremamente sensíveis aos bacilos dessa origem, mesmo que atenuados, e pelo fato de poder ser transmitido pelos excrementos dos animais. Os pesquisadores perceberam que bacilos de origem bovina atenuados por calor e ingeridos nas condições acima citadas, vacinavam os bovinos, depois de quatro meses dessa ingestão, contra a infecção artificial pelo trato digestivo (Calmette & Guérin, 1906c). Dessa forma, foi possível aos pesquisadores vacinarem bovinos jovens, por meio da ingestão de bacilos modificados por calor.

Os experimentos sobre essa vacina se multiplicavam, e caso os resultados citados acima fossem confirmados, esse método poderia ser aplicado à espécie humana. Ainda nesse momento da pesquisa Calmette e Guérin (1906c) já defendiam que as crianças poderiam receber a vacina logo após o nascimento, mas seria necessário manter essas crianças longe de possíveis meios de contaminação por quatro meses, tempo de espera para efetivação da vacinação. Ambos afirmavam

¹⁰ Os pesquisadores utilizam a terminologia testemunha em suas obras originais para se referir ao grupo controle.

que esse desafio seria irrelevante diante dos interesses sociais na luta contra a tuberculose (Calmette & Guérin, 1906c).

Em sua terceira memória acerca da origem intestinal da tuberculose pulmonar e o mecanismo de infecção da mesma (Calmette & Guérin, 1906b), os autores descobriram que quando bovinos jovens ingeriam uma pequena quantidade de bacilos virulentos da tuberculose por meio de uma sonda esofágica, a maioria dos animais reagia à tuberculina até aproximadamente dois meses após a infecção, porém, em seguida essa reação cessava e os animais pareciam não apenas curados, mas também vacinados, uma vez que não apresentavam mais os sintomas da infecção e a ingestão desses bacilos proporcionava certa imunidade aos animais. Os pesquisadores também mostraram que quando os bovinos jovens eram submetidos a várias reinfecções sucessivas, repetidas em intervalos curtos, as lesões pioravam e nunca cicatrizavam (Calmette & Guérin, 1907). A constatação desses fatos os levou a realizar novos experimentos, a fim de descobrir depois de quanto tempo após uma infecção artificial e única, por meio do trato gastrointestinal, a imunidade se manifestava; se era possível conferir imunidade via trato digestivo com a ingestão de uma ou duas refeições adequadamente espaçadas de bacilos da tuberculose atenuados por calor ou por produtos químicos; por quanto tempo os animais vacinados por esses métodos mantinham sua imunidade e por fim, se animais vacinados resistiam à convivência prolongada com outros animais infectados com tuberculose ou se resistiam à infecção por via intravenosa (Calmette & Guérin, 1907).

O teste dessas conjecturas ocorreu por experimentos¹¹ com bovinos jovens. Tais experimentos se mostraram importantes, pois possibilitaram aos cientistas concluir que uma infecção com bacilos virulentos introduzidos por meio do tubo esofágico no trato digestivo dos bovinos era suficiente para imuniza-los, após alguns dias da ingestão, contra uma dose dupla de bactérias (Calmette & Guérin, 1907).

Em nova série de experimentos, três dos animais supostamente vacinados e mais quatro animais de um grupo controle foram infectados artificialmente com bacilos da tuberculose e nenhum dos três animais vacinados esboçaram qualquer reação à tuberculina. O mesmo ocorreu com as quatro testemunhas, após oito

¹¹ Esses experimentos estão mais bem detalhados no capítulo 02.

meses da infecção não reagiam mais à tuberculina, sendo considerados pelos pesquisadores como curados e vacinados (Calmette & Guérin, 1907). Os resultados mostraram que independente da dose de bacilos ingerida artificialmente pelo trato digestivo por meio de uma refeição, os bovinos jovens com idades entre sete a dez meses ainda se curavam, dentro de um período máximo de três meses, das lesões tuberculosas. Quando essas lesões já estavam curadas e os animais não reagiam à tuberculina, eles eram considerados vacinados e mantinham a imunidade por pelo menos oito meses, talvez mais, concluíram os autores (Calmette & Guérin, 1907).

Como os testes foram realizados com bovinos jovens, Calmette e Guérin interessaram-se em saber como se comportavam os bovinos adultos em relação à infecção de tuberculose via trato digestivo e se podiam ser vacinados da mesma maneira. Para tal, utilizaram sete vacas com idade acima de três anos. Os animais não haviam reagido à tuberculina anteriormente e após a ingestão de bacilos bovinos atenuados por calor, não mostraram reação. Como resultado da autópsia, nenhuma lesão tuberculosa foi encontrada e não havia nenhum vestígio de tubérculos antigos e novos (Calmette & Guérin, 1907).

Por meio desses experimentos, os pesquisadores concluíram que tanto bovinos jovens, quanto adultos, eram susceptíveis a se recuperar em poucos meses depois de uma infecção artificial de bacilos da tuberculose e após a cura ganhavam imunidade real contra uma ou mais infecções. Além disso, a ingestão de duas doses de bacilos da tuberculose aquecidos, em um período de 45 dias de intervalo entre elas, fornecia aos bovinos adultos uma resistência, fazendo com que não reagissem à tuberculina, mesmo após fazê-los absorver doses de bacilos da tuberculose virulentos, que certamente causariam reação nesses animais, no prazo de um a dois meses (Calmette & Guérin, 1907).

Como conclusão desses experimentos, Calmette e Guérin (1907) relataram que a infecção de tuberculose em bovinos jovens ou adultos dependia do número de bacilos absorvidos, a sua virulência e a frequência da contaminação. Eles inferiram que tais fatos provavelmente também ocorreriam em seres humanos. Depreenderam também que um animal podia ser considerado como curado após uma reação negativa à tuberculina e posteriormente à cura, o animal adquiria uma acentuada resistência contra novas infecções. Porém, até o período de produção do

artigo (1907), não era possível determinar a duração da imunidade, tendo sido testado pelos pesquisadores que ela persistia por pelo menos oito meses nos bovinos.

Subsequente a esses experimentos acima mencionados, Calmette, Guérin e Breton¹² (1907) produziram uma série de experimentos sobre infecção e vacinação por meio do trato digestivo, usando métodos já empregados nos grandes mamíferos. Utilizaram o porquinho da índia como animal de teste, uma vez que o consideravam, de todos os mamíferos que podiam ser infectados experimentalmente com tuberculose bovina, o mais sensível. O curioso era que este animal quase nunca contraía tuberculose espontaneamente nas fazendas, mas adquiria tuberculose facilmente com a inoculação de poucos bacilos virulentos em seu corpo.

Para garantir a ocorrência da infecção, os pesquisadores optaram por usar uma técnica cuja eficácia já havia sido testada em coelhos, cabras e bovinos, uma vez que tentar a infecção com pedaços de órgãos tuberculosos ou leite infectado nem sempre garantia a eficácia da mesma. A técnica mencionada envolvia a inoculação diretamente no estômago, por meio de um tubo, de culturas de bacilos da tuberculose, sendo que o animal precisava estar em jejum de 24 horas (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Junto com a emulsão de bacilos era adicionado uma solução mucilaginosa¹³ preparada com semente de linhaça e água. As sementes eram separadas por simples decantação e a consistência do fluido era semelhante à saliva e tinha a função de manter os bacilos bem divididos e em perfeito estado de suspensão até a chegada ao intestino. O animal era mantido imobilizado dentro de uma caixa cilíndrica. As sondas esofágicas utilizadas eram sondas simples uretrais, as quais permitiam o recebimento dos bacilos por meio de uma seringa de injeção (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Após a dose ser injetada, igual quantidade de água também o era, pois permitia uma limpeza das paredes do esôfago. Só então a sonda era extraída a partir de um movimento rápido, buscando evitar que qualquer vestígio de matéria

¹² Não foram encontrados dados sobre ano de nascimento e morte do pesquisador, assim como sua nacionalidade e nome completo.

¹³ Solução mucilaginosa é uma secreção rica em polissacarídeos. Ela consegue reter a água e aumentar seu tamanho.

virulenta fluísse para o trato respiratório superior. Toda essa manobra era realizada em menos de um minuto (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Por meio da utilização dessa técnica, os pesquisadores mostraram mediante experimentos¹⁴ que pelo menos dez dias após a absorção dos bacilos por meio do trato digestivo, a infecção tuberculosa já se encontrava espalhada por todo o sistema linfático dos roedores (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Para testar as possíveis formas de infecção, os pesquisadores utilizaram novamente porquinhos da índia, os quais foram alimentados apenas com purê de batatas e cenouras contendo uma mistura de cultura de bacilos bovinos virulentos durante três dias seguidos. A maioria sobreviveu, não adquirindo lesões tuberculosas. Outros foram alimentados por meio de sonda esofágica em dose única com bacilos bovinos. Destes, todos sucumbiram até o 40º dia. Com base nesses resultados, os pesquisadores concluíram que para que ocorresse a absorção dos bacilos da tuberculose pelo trato digestivo, estes deveriam estar em um estado de emulsão estável, além de que bacilos misturados em alimentos sólidos raramente infectavam as cobaias (Calmette, Guérin & Breton, 1907). Esse tipo de experimento já havia sido realizado por Calmette e Guérin anteriormente, porém com animais de grande porte. Agora, com animais de porte pequeno, foi possível perceber que a ingestão de bacilos da tuberculose envoltos em alimentos sólidos também não era capaz de infectar um número considerável de animais. Com relação aos grandes mamíferos, esse número chegava a zero.

Esse foi um resumo dos resultados dos experimentos realizados com 342 porquinhos da índia para saber se era possível vacinar esses roedores contra infecção da tuberculose por meio do trato digestivo. Com relação às tentativas de produção dessa vacina foram utilizados exclusivamente bacilos da tuberculose de origem bovina tratado com vários reagentes ou por aquecimento (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Tais bacilos eram bem tolerados se ingeridos em doses com um mês de intervalo. Porquinhos da índia que ingeriram doses de bacilos da tuberculose de origem bovina, respeitando o intervalo de tempo acima mencionado, foram testados

¹⁴ Esses experimentos estão detalhados no Capítulo 02.

dois meses após a segunda ingestão. Um grupo controle que não passou pelo procedimento também foi utilizado. Todos tiveram introduzidos bacilos virulentos. Noventa dias após, todos os membros do grupo controle haviam morrido, assim como algumas das cobaias testadas. As duas cobaias que resistiram, foram sacrificadas após um ano e nenhum traço de lesão tuberculosa foi encontrado. Os pesquisadores continuaram com experimentos nesse mesmo padrão, modificando o número de dias entre as ingestões de bacilos atenuados para 45 dias. Cobaias e grupo controle faleceram na realização desse procedimento (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Os cientistas realizaram a atenuação dos bacilos da tuberculose de diversas formas, com iodo, hipoclorito de sódio, aquecimento e os porquinhos da índia tiveram esses bacilos injetados sob a pele, a fim de se averiguar a criação de resistência a bacilos virulentos, como Calmette já havia feito na elaboração de um soro antiveneno de cobra (Calmette, 1892; Calmette, 1897). Além dos bacilos da tuberculose de origem bovina, os pesquisadores utilizaram bacilos da tuberculose de origem aviária, equina e da pseudo-tuberculose. Todavia não relataram os experimentos em detalhes, uma vez que os resultados obtidos não foram considerados relevantes (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Assim, é possível depreender a partir dos experimentos, que todas as cobaias adultas infectadas com bacilos virulentos da tuberculose, por meio da técnica acima mencionada, ou seja, com os bacilos em emulsão, adquirem tuberculose. As lesões causadas pela infecção pelo trato digestivo frequentemente ocorrem nos pulmões e linfonodos. Bacilos atenuados por calor, maceração em álcool e privados de seu envelope de gordura são tóxicos para porquinhos da índia, quando absorvidos pelo trato gastrointestinal. Estes mesmos bacilos, se tratados com vários produtos químicos ou calor, quando absorvidos sob as mesmas condições e em pequenas doses a longos intervalos de tempo, davam às cobaias alguma resistência à infecção (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

A maceração dos bacilos por dez dias em água salgada, em iodo ou o aquecimento durante 10 minutos a 100° C foram os processos de tratamento que se mostraram mais eficazes aos experimentos. A ingestão de uma dose de bacilos aquecidos por este último processo, seguido de 45 dias mais tarde de uma segunda

dose de bacilos aquecidos por 10 minutos à 65° C, proporcionaram uma resistência mais manifestada, suficiente para permitir uma imunidade contra bacilos da tuberculose virulentos, certamente fatais para um grupo controle (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Estas foram algumas das conclusões a que chegaram os pesquisadores durante seus testes iniciais para produção de uma possível vacina. Alguns dos experimentos realizados foram motivados pelas pesquisas anteriores de Calmette para o desenvolvimento de um soro antivenoso para o tratamento de picadas de cobras.

1.5 Meios de diagnóstico da tuberculose

Calmette (1907) disserta em seu texto sobre o processo de diagnóstico da tuberculose em seres humanos relatado¹⁵ pelo o médico austríaco Clemens Peter von Pirket¹⁶ (1874-1929). Von Pirket relatou a existência de uma reação quando introduzido uma pequena quantidade de tuberculina sobre a pele de um indivíduo tuberculoso, essa reação ocorre em um período de 48 horas, com a formação de uma mancha vermelha no local da introdução. Tal mancha desaparecia após oito dias e a mesma não ocorria em indivíduos saudáveis. Esse mesmo procedimento poderia ser utilizado em bovinos e foi nomeada de teste de pele.

Os relatos de von Pirket proporcionaram um meio de detecção de indivíduos que tivessem contraído a tuberculose e ainda não haviam sido diagnosticados ou mesmo de indivíduos que entraram em contato com os bacilos, mas que estes tenham permanecido em um estado de vida latente e portanto, não houve a manifestação da doença.

¹⁵ Deutsche medizinische Wochenschrift, p. 865. 1907.

¹⁶ Von Pirket realiza estudos com a tuberculina e percebe que esta podia causar uma reação semelhante a da tuberculose. Ele descreve essa reação de hipersensibilidade como uma reação alérgica, termo cunhado pelo próprio pesquisador.

Experimentos com seres humanos foram realizados por Calmette em cooperação com dois de seus alunos, Breton e Petit¹⁷, e se trataram da primeira série de testes a serviço de uma clínica médica associada ao hospital de Lille. Os sujeitos de pesquisa eram um total de vinte e cinco, entre crianças e adultos diagnosticados com tuberculose ou com outras doenças não tuberculosas. Calmette também contou com a ajuda do oftalmologista francês M. Painblan¹⁸, responsável por auxiliar na determinação das lesões observadas, uma vez que as pesquisas para diagnóstico que Calmette estava realizando ocorreria por meio dos olhos, numa reação chamada por ele de oftalmo-reação à tuberculina (Calmette, 1907; Calmette, Breton & Petit, 1907). A técnica de introdução da tuberculina por Calmette e Guérin via conjuntiva ocorria por meio de um pincel de pelo de texugo, o qual era colocado sob a pálpebra superior e mantido por um momento no lugar (Calmette & Guérin, 1908b), tal forma de se trabalhar sempre ofereceu boas reações em animais tuberculosos.

Com o propósito de evitar qualquer irritação na conjuntiva, utilizaram apenas tuberculina seca precipitada em álcool e em água destilada esterilizada. O preparado foi realizado no momento da aplicação e o procedimento consistiu na administração de uma gota em um olho de cada sujeito de pesquisa. No período decorrido de cinco horas da execução da técnica, todos com tuberculose apresentavam a conjuntiva avermelhada. A reação mais elevada ocorreu entre seis e dez horas, sem proporcionar nenhuma dor, apenas desconforto, pequeno ardor e dificuldade na visão devido à abundância de exsudado ou lágrimas. Após 36 horas os fenômenos desaparecem em todos os pacientes (Calmette, Breton & Petit, 1907).

Era fácil apreciar a intensidade da reação entre indivíduos com e sem tuberculose, uma vez que aplicando o mesmo procedimento nos animais não tuberculosos, a tuberculina era totalmente inofensiva. Os pacientes com doenças não tuberculosas apresentavam dor ciática, nefrite ou também chamada de mal de Bright, linfangite, assistolia, confusão mental e catatonia, esclerose múltipla¹⁹, gripe e endocardite (Calmette, 1907).

¹⁷ Não foram encontrados dados sobre a nacionalidade, ano de nascimento e morte do pesquisador.

¹⁸ Não foram encontrados ano de nascimento e morte do médico Painblan.

¹⁹ É uma doença neurológica, crônica e autoimune em que as células de defesa do organismo atacam o próprio sistema nervoso central, provocando lesões cerebrais e medulares.

Dessa forma, era possível diagnosticar quais indivíduos possivelmente haviam contraído a doença por meio de uma técnica relativamente simples e de fácil aplicação, cujos resultados poderiam ser obtidos em poucas horas.

Calmette (1907) sugeriu que esse fenômeno fosse estudado por médicos, uma vez que essa técnica parecia reagir muito mais rapidamente do que o teste de pele anteriormente mencionado. Além disso, havia o fato do autor afirmar que o procedimento parecia não ter desvantagens ou perigos, baseado nos experimentos acima relatados, resolvendo um grande problema do período resultante da dificuldade de se estabelecer um diagnóstico precoce da doença da tuberculose.

Apesar dos benefícios dessa técnica, por meio dela era apenas possível detectar os indivíduos que haviam entrado em contato com os bacilos da tuberculose, mesmo que não tivessem contraído a doença. Portanto, a técnica não proporcionava a distinção entre os indivíduos tuberculosos e aqueles cujos bacilos estavam presentes no organismo em estado de vida latente, ou seja, que poderiam ou não, vir a contrair a doença.

1.6 Duração e eficácia da vacinação

Recapitulando a produção de Calmette no ano de 1907, em seus trabalhos, ele relatou estar convencido da possibilidade de fornecer a bovinos uma acentuada resistência à infecção artificial de tuberculose por meio do trato digestivo. Tal resistência poderia ser obtida pela ingestão, utilizando uma sonda gástrica, de emulsões de bacilos da tuberculose de origem bovina modificados por aquecimento. Os trabalhos de Calmette evidenciaram que uma única ingestão de bacilos virulentos era capaz de fornecer resistência durante vários meses à ingestão de bacilos que certamente infectaria os animais controles.

Restava agora saber se essa seria uma imunidade verdadeira, ou seja, de longo prazo, e se não ocorreria à persistência dos bacilos no organismo, uma vez que Calmette não pensava ser suficiente apenas a falta de reação à tuberculina, já que os bacilos poderiam permanecer em estado de vida latente no organismo. Com

a finalidade de investigar tal questão, Calmette e Guérin (1908a) utilizaram bovinos que já haviam sido empregados em experimentos sobre vacinação via trato digestivo.

Tais bovinos foram sacrificados e autópsia não revelou nenhuma lesão tuberculosa. Nódulos linfáticos mesentéricos e pulmões foram recolhidos e separadamente esmagados, após, foram inoculados sob a pele da coxa de porquinhos de índia. Esse experimento mostrou que uma grande porcentagem dos porquinhos não contraiu tuberculose (Calmette & Guérin, 1908a). Os pesquisadores se mostraram ansiosos por elucidar esse mecanismo de proteção, uma vez que a esses animais anteriormente vacinados foram introduzidos bacilos virulentos e nenhuma lesão surgiu. Os órgãos deles também não causavam tuberculose quando inoculados em cobaias consideradas extremamente sensíveis à doença. Aos pesquisadores restava averiguar se os bacilos virulentos previamente ingeridos seriam capazes de promover imunidade suficiente para suportar infecções naturais ou artificiais para que possa considerar o organismo vacinado.

Aos cientistas já era possível constatar que esses animais escapavam de infecção artificial pelo sangue e infecção natural por convivência prolongada com outros animais detentores de lesões tuberculosas. Bovinos colocados nas mesmas condições adquirem tuberculose (Calmette & Guérin, 1908a). Ainda não era possível determinar a duração dessa imunidade, em vista disso, realizaram experimentos²⁰ para determinar se a vacina poderia resistir um ano após a refeição infectante.

Em resumo, os experimentos com vacas previamente resistentes por meio de infecção pelo trato digestivo mostraram que elas tinham resistência à inoculação intravenosa de bacilos virulentos da tuberculose, não adquirindo a doença. Assim sendo, bacilos inoculados na corrente sanguínea tinham se mostrado incapazes de produzir tubérculos, desde que a imunidade parcial fosse antes conferida, após meses da última ingestão de bacilos atenuados.

Calmette e Guérin (1908a) realizaram pesquisas para testar os métodos de vacinação propostos pelo alemão von Behring em 1902. Tal método consistia em fornecer imunidade por meio da inoculação intravenosa de uma pequena quantidade

²⁰ Esses experimentos estão detalhados no Capítulo 02.

de bacilos vivos. Eles perceberam que estes poderiam permanecer inofensivos no corpo por meses, deixando evidente para os pesquisadores que tal método não seria o mais adequado para vacinação, uma vez que produz uma resistência que pouco dura. Adendo a isso, os bacilos não eram reabsorvidos, permanecendo em estado de vida latente nos gânglios linfáticos da cavidade torácica. Por outro lado, quando esses mesmos bacilos eram introduzidos em um estado de emulsão pelo trato digestivo, eles eram absorvidos e completamente destruídos nos gânglios linfáticos mesentéricos em um tempo relativamente curto, não superior a seis meses, dando ao gado um estatuto de imunidade relativa (Calmette & Guérin, 1908a).

Assim, por meio dessas pesquisas, os pesquisadores testaram o método de produção de imunidade realizado por eles até o momento com outro se apresentava no período. Verificaram que o utilizado por eles se mostrava mais inofensivo, já que não proporcionava a permanência dos bacilos, mesmo que em estado de vida latente, no organismo.

1.7 Meios de cultivo dos bacilos

Calmette e Guérin (1908c), por meio de investigações anteriores sobre infecção artificial por meio do trato digestivo, chegaram à conclusão de que para se infectar os animais com culturas de bacilos da tuberculose, era necessário que os mesmos estivessem em um líquido mucilaginoso. Isso evidenciava a gravidade de infecções em bovinos pela ingestão de leite, o qual proporcionava as condições para que o bacilo fosse absorvido no trato digestivo. Eles também mostraram que os bacilos eram absorvidos mais facilmente pelo trato digestivo do que via subcutânea ou intravenosa. Animais vacinados já não apresentavam qualquer presença de bacilos três meses após a infecção intestinal, enquanto que em um grupo controle essa presença era detectável ainda após dez meses da infecção. Ambos perceberam que as lesões produzidas por infecção artificial eram geralmente muito diferentes das observadas em infecções naturais ou causadas pela ingestão de leite infectado (Calmette & Guérin, 1908c).

Com relação ao cultivo dos bacilos da tuberculose, eles perceberam que estes cresciam perfeitamente em bile pura. Bacilos da tuberculose bem crescidos eram granulares e finos. Os cultivados em bile matavam uma cobaia no prazo máximo de 18 dias, enquanto que os cultivados em outras culturas, como batata, matavam entre 20 e 45 dias (Calmette & Guérin, 1908c). Assim sendo, puderam concluir que os bacilos da tuberculose bovina cultivados em bile de boa qualidade mantinham as propriedades que permitiam que fossem facilmente absorvidos pela parede do intestino. Essa informação se tornou imprescindível para o desenvolvimento do BCG, uma vez que esse foi o meio de cultura utilizado para o crescimento dos bacilos da tuberculose de origem bovina empregados para o desenvolvimento da vacina.

O mesmo cultivo não promovia igual crescimento aos demais tipos de bacilos da tuberculose, possibilitando a diferenciação dos tipos de bacilo da tuberculose; bovina, aviária e humana (Calmette & Guérin, 1908c; Calmette, 1909b). Nesse momento, desenvolveram uma nova forma de identificação das diferentes origens dos bacilos da tuberculose. A primeira delas foi a identificação da proveniência dos bacilos por meio da inoculação em úberes de cabra, as quais apresentavam reações diferentes para os diversos tipos de culturas de bacilos da tuberculose (Para saber mais sobre os experimentos com meio de cultura vide Calmette, Breton e Massol²¹, 1909).

1.8 Novas discussões acerca da tuberculose

As discussões sobre os novos diagnósticos e tratamentos da tuberculose foram abertas por Calmette (1909a), que observou 20 mil casos e foi capaz de fornecer algumas importantes conclusões. A infecção geralmente ficava localizada por um tempo nas glândulas linfáticas e se os bacilos não fossem numerosos ou virulentos o suficiente, eles podiam ser destruídos nessas glândulas. Lesões severas eram resultados de uma grande infecção ou de pequenas infecções repetidas em intervalos pequenos de tempo (Calmette, 1909a; Calmette, 1909b).

²¹ Léon Massol (1836-1909) nasceu na Suíça e foi um bacteriologista.

1.9 Hereditariedade e a tuberculose

Em seu artigo na Conferência Internacional sobre a Tuberculose, ocorrida em Bruxelas no ano de 1910, Calmette (1910) discutiu sobre a hereditariedade da tuberculose adquirida no útero. Os pesquisadores do período estavam divididos em dois grupos no que se referia a essa questão: aqueles que concordavam na possibilidade de se contrair a doença pelo útero e os que não. Para o autor esse fato era inegável, conforme mostraram os trabalhos de uma série de cientistas, como do francês Nocard. Quando essa infecção pelo útero ocorria, parecia ser quase que exclusivamente pelo sangue que atravessava a placenta (Calmette, 1910).

Alguns estudos indicavam que espermatozóides de indivíduos tuberculosos poderiam infectar o óvulo no momento da fertilização. Não havia contestação de que esses modos de infecção eram extremamente raros (Calmette 1910). Devido a isso, o pesquisador não considerava um meio de transmissão significativa na questão da tuberculose hereditária. Uma dúvida a ser respondida era se as crianças nascidas de pais tuberculosos possuíam alguns defeitos orgânicos que os tornavam mais suscetíveis à infecção do que crianças nascidas de mães saudáveis.

Bacilos virulentos da tuberculose foram injetados via intravenosa em cobaias fêmeas antes ou depois do início de uma gestação. Estas apresentaram parto prematuro ou aborto, e quando ocorria o nascimento, a mãe não alimentava seus filhotes, de forma que os mesmos acabavam sucumbindo. Apenas a infecção por meio do trato digestivo e que possibilitassem aos animais já estarem saudáveis oito semanas antes da gestação permitia que os jovens nascidos se desenvolvessem (Calmette, 1910).

Houve também o sacrifício de 18 fêmeas prenhas e infectadas com bacilos virulentos da tuberculose de origem bovina, todas apresentavam linfonodos mesentéricos tuberculosos. Os fígados e os baços de seus fetos foram esmagados e injetados em cobaias, mas nenhuma delas adquiriu tuberculose (Calmette, 1910). Assim, pode-se concluir que filhotes nascidos de mães infectadas por meio do trato

digestivo não apresentavam transmissão dos bacilos por meio do útero e nem reação à tuberculina. O mesmo não ocorria quando os bacilos eram diretamente injetados na corrente sanguínea de cobaias prenhas, pois os filhotes nascidos manifestavam sensibilidade à tuberculina (Calmette, 1910), evidenciando que poderiam ter entrado em contato com os bacilos.

Para Calmette o gado, que apresentava uma grande suscetibilidade natural para contrair tuberculose, poderia fornecer dados mais valiosos, entretanto, ninguém manteve tempo suficiente os filhotes isolados de suas mães e seguros de contágio natural, uma vez que esses bezerros recém-nascidos já eram utilizados para testes de sua resistência a uma infecção artificial (Calmette, 1910). Com relação a esse fato, os dados positivos a respeito foram aqueles coletados de matadouros das grandes cidades, os quais mostraram ser muito rara a tuberculose em bovinos jovens com idade inferior a seis meses. Assim sendo, bezerros de mães tuberculosas separados no nascimento e alimentados com leite de vacas saudáveis permaneciam saudáveis indefinidamente (Calmette, 1910).

Calmette (1910) menciona os achados de Guérin, seu colaborador, sobre a predisposição à infecção por tuberculose, uma vez que se mostrava claro que algumas raças de gado adquiriam tuberculose mais facilmente do que outras, quando mantidas em um mesmo estábulo. Fato semelhante foi observado no homem, uma vez que se descobriu que alguns povos da Oceania apresentavam extrema sensibilidade ao contágio bacilar, tendo uma progressão bastante rápida da doença. Por outro lado, nas áreas urbanas dos Estados Unidos, Europa e Norte da África, a mortalidade por tuberculose era muito mais baixa nos judeus do que o resto da população. Dados comprovavam isso, uma vez que a cada mil mortes de judeus, 37 eram por causa da tuberculose, enquanto que na população geral, esse número era de 138. Dados similares foram observados em Viena, Budapeste e Londres, levando Calmette a afirmar que os judeus possuíam uma resistência especial à infecção por tuberculose (Calmette, 1910).

O pesquisador (Calmette, 1910) veio a realizar 321 testes em crianças de todas as idades na cidade de Lille, com a finalidade de verificar se crianças nascidas de mães tuberculosas reagiam à tuberculina. Os resultados mostraram que apenas uma criança de dois meses apresentou reação positiva. O mesmo teste foi realizado

em 384 adultos de um asilo de internação psiquiátrica. Calmette obteve 337 reações positivas, levando-o a concluir que depois de 15 anos de idade, na cidade de Lille, pelo menos 90% dos indivíduos eram, mais ou menos, severamente infectados com tuberculose. Também nessa região, o número de óbitos decorrentes da tuberculose era de 25%, dessa forma apenas uma pequena porcentagem da população passaria sua existência sem adquirir a contaminação (Calmette, 1910).

Nada fez o pesquisador pensar que o grande número de crianças infectadas entre 2 e 15 anos fosse decorrente de mal formações resultantes da hereditariedade, uma vez que para Calmette, se essas crianças tivessem sido retiradas de suas famílias e tivessem ficado livres de contágio, mesmo aqueles que nasceram raquíticos e doentes, provavelmente teriam chegado a idade adulta sem terem sido afetados pelo bacilo (Calmette, 1910). Assim, o pesquisador concluiu que não se pode aceitar como válida a existência de distrofias hereditárias específicas para a infecção por tuberculose, muito menos concordar na existência congênita de uma imunidade à tuberculose.

Admitiu-se, então, que filhos de mães tuberculosas eram susceptíveis a contrair infecção por bacilos da tuberculose porque seus organismos se “defendiam” mal. Dessa forma, o mesmo ocorria para outras infecções e envenenamentos diversos. Deveria ser condenada, na opinião de Calmette, essa tese da hereditariedade da tuberculose, para que não se cometesse atos fatais no combate às mães tuberculosas, uma vez que ele tinha plena certeza de que o contágio uterino era extremamente raro.

Temos de nos apressar para espalhar esta verdade ao público. Quando for percebida teremos menos dificuldade em convencer as mães de famílias tuberculosas de que elas têm que aceitar a remoção precoce de seus filhos e que para elas essa é a melhor maneira de amar. (Calmette, 1910, p. 777).

1.10 Modificação das propriedades dos bacilos

Em pesquisa anterior, Calmette e Guérin (1910) mostraram que podiam alterar as propriedades do bacilo da tuberculose dependendo do meio de cultivo. Eles possuíam agora um bacilo bovino de baixa virulência para pequenos animais.

Tais bacilos produziam febre, depois de injetado grande dose via inoculação intravenosa, mas cerca de um mês após o procedimento, ocorria o desaparecimento da febre e os animais pareciam saudáveis, permanecendo por um longo tempo com os bacilos vivos em suas glândulas brônquicas. Bovinos jovens assim tratados mostravam-se tolerantes a bacilos virulentos da tuberculose de origem bovina, o mesmo não acontecia com animais controle. A tolerância era, portanto, evidente após 30 dias de uma única inoculação (Calmette & Guérin, 1910).

Foi observado, em uma novilha hiperimunizada, o fornecimento de um soro que quando em contato *in vitro* durante 48 horas com bacilos cultivados em bile, acelerava consideravelmente a absorção destes. A inoculação desses bacilos sensibilizados pela mistura do soro conferia certa proteção ao animal. Tal afirmação se deu pelo resultado do seguinte experimento: foram inoculados bacilos sensibilizados em cobaias e decorridos 30 dias desse procedimento, houve a inoculação intravenosa de bacilos bovinos virulentos. Após 120 dias dessa última inoculação, os bacilos já estavam completamente absorvidos pelo organismo, enquanto que animais controle ainda os tinham, perfeitamente virulentos, decorridos esse mesmo período (Calmette & Guérin, 1910). Esses experimentos expressam grande importância, já que pela primeira vez foi possível ao corpo absorver, em um tempo relativamente curto, bacilos bovinos virulentos.

Calmette e Guérin (1911a) relembram os experimentos sobre as modificações do bacilo da tuberculose utilizando diversas culturas, como bile e batata. Se houvesse a multiplicação dos bacilos em bile de bovinos, a virulência para as cobaias era atenuada em cada passagem desses bacilos pelo organismo. Em cavalos esse fato não ocorria, pois todos os animais sucumbiam quando eram injetado esses bacilos sensibilizados.

Calmette realizou alguns experimentos com soro de animais imunizados (Calmette & Guérin, 1911a; Calmette & Massol, 1911), baseados nos procedimentos utilizados pelo pesquisador em relação ao veneno de cobra. Nesses experimentos o soro de animais vacinados atenuava o veneno de cobra quando entravam em contato. Ao contrário, com os bacilos da tuberculose, o soro produzia distúrbios mais graves (Calmette & Guérin, 1911a). Assim, o soro de animais vacinados não tinha

nenhuma ação preventiva ou curativa, acabava por aumentar a extensão e velocidade da evolução das lesões.

Os experimentos com soro na infecção tuberculosa em bovinos foi importante, pois permitiu se analisar se este soro realmente não exercia uma ação favorável nesses animais. Como esses resultados não foram animadores, os pesquisadores pensaram se a inoculação de altas doses de bacilos atenuados em novilhas que não pareciam sofrer qualquer dano conferiam propriedades análogas aos do soro. Porém, com o que sabiam sobre os bacilos da tuberculose e sua resistência especial para ações digestivas de leucócitos, foram levados a pensar que sua absorção no organismo, mesmo quando sua virulência fosse atenuada, poderia ser muito difícil e lenta (Calmette & Guérin, 1911a).

Se essa absorção dos bacilos era tão difícil, qual era o destino deles quando injetados enormes quantidades mensalmente em animais? Pesquisadores apontaram que bovinos portadores da tuberculose eliminavam bacilos em suas fezes, a mesma constatação foi observada em humanos. Calmette e Guérin (1911a) observaram que os bacilos injetados na veia de coelhos eram encontrados na vesícula biliar, onde seriam eliminados no intestino.

Devidos aos muitos experimentos realizados durante vários anos, tanto sobre infecção por tuberculose experimental quanto sobre vacinação de bovinos, levaram os pesquisadores a admitir que a maior ou menor resistência conferida ao gado contra a tuberculose parece ser dependente da maior ou menor habilidade adquirida pelo organismo animal em eliminar os bacilos da tuberculose na natureza por meio do intestino.

Calmette e Guérin (1911b) relembram que muitos experimentos mostraram que a tuberculose pulmonar, na grande maioria dos casos, tem origem na absorção do bacilo da tuberculose no trato digestivo. Os pesquisadores colocaram animais em quartos e espalharam partículas de material tuberculoso, garantindo que muitos bacilos entrariam nos pulmões dos animais. Percebeu-se que a infecção pulmonar não se instalava com esse experimento. Calmette e Guérin (1911b) estavam convencidos que de as lesões características da tuberculose pulmonar resultavam de uma ou mais infecções, geralmente de origem intestinal.

É possível perceber que apesar de já terem chegado a essa conclusão anteriormente, os pesquisadores continuaram a realizar experimentos para testar essa hipótese. Dessa forma, acabaram promovendo um diálogo com os discursos do período, uma vez que havia uma divisão entre os pesquisadores da época sobre a origem da tuberculose pulmonar.

1.11 Relações da tuberculose com o homem e outros animais

De acordo com Calmette (1912a), as questões das relações da tuberculose dos homens e dos outros animais elucidaram um grande número de pesquisas laboratoriais e observações clínicas. As conclusões obtidas serviram de base para as legislações sanitárias, uma vez que a higiene pública passou a ser usada na luta contra a tuberculose. Esse trecho retrata que as questões científicas se relacionaram com sociedade da época e vice-versa, uma vez que a grande quantidade de pesquisas acerca da tuberculose ocorreu porque essa doença estava presente em muitos países e causava muitas mortes.

Aparentemente os bacilos, também ditos ácido-resistentes, pertenciam a uma mesma família, das saprófitas, que progressivamente se adaptaram a viver parasitando certos organismos animais, sendo virulentos para diversas espécies destes. A tuberculose em animais de sangue frio era extremamente rara e a tuberculose do tipo aviária era considerada inofensiva para os mamíferos (exceto coelhos), portanto não recebeu tanta atenção dos pesquisadores (Calmette, 1912a).

As lesões tuberculosas encontradas em mamíferos com a doença eram causadas pelos bacilos. Os mamíferos que adquiriam tuberculose eram classificados por Calmette (1912a) por ordem de sensibilidade, sendo os mais sensíveis os bovinos e os homens. Os outros animais domésticos eram, também por ordem de sensibilidade do mais sensível para o menos, porcos, cachorros, gatos, cavalos, cabras, burros, ovelhas e coelhos. Estes podiam adquirir tuberculose se tivessem uma convivência prolongada com o homem ou bovinos. Animais selvagens, como macacos e grandes felinos (tigres, leões, etc.) jamais adquiriam tuberculose

espontaneamente, porém, quando em cativeiro se tornavam passíveis de contraírem a doença (Calmette, 1912a).

A contaminação bacilar era mais frequente em animais domésticos e em seres humanos que viviam em sociedade, sendo assim, animais selvagens eram mais resistentes, assim como humanos que não tinham muito contato com a civilização, como, por exemplo, os moradores de regiões polares (Calmette, 1912a). Os bacilos isolados de lesões tuberculosas de mamíferos, ou eram bovinos ou de origem humana e apresentavam praticamente as mesmas características morfológicas. Os bacilos de origem humana eram bastante virulentos a coelhos, e podiam infectar geralmente bovinos, cavalos, cabras e ovelhas. Já os bacilos de origem bovina eram extremamente virulentos para os bovinos e geralmente se mostravam infectante para porcos, macacos, coelhos, cabras, cavalos e gatos. O homem, por outro lado, era mais sensível ao bacilo de origem humana, mas podia se infectar via trato digestivo com os bacilos de origem bovina (Calmette, 1912a).

Em vista dessas conclusões, Calmette (1912a) dizia ser importante ao poder público adotar medidas que viessem a suprimir a contaminação entre humanos e principalmente a contaminação familiar, além da erradicação da tuberculose bovina. “Quando homens e bovinos, que adquirem tuberculose espontaneamente, forem protegidos, a civilização de um e a economia dos outros, vão prosperar sem a ameaça da tuberculose para deter o crescimento de seu progresso.” (Calmette, 1912a, p. 519).

Era do conhecimento de Calmette (1912b) que a tuberculose estava repartida de forma desigual em várias partes do globo, sendo especialmente comum entre os povos, chamados pelo pesquisador, de civilizados. Sua distribuição estava intimamente associada com a intensidade do comércio, sendo os europeus considerados os mais afetados, assim como os principais veículos da infecção bacilar em todo mundo.

Calmette (1921b) considerava bastante útil a compreensão da etiologia da doença, tão mortal, a fim de se observar como ela se espalhava e afetava uma região anteriormente livre, possibilitando uma profilaxia mais eficaz do que as quais estavam tentando organizar até o momento. De acordo com as pesquisas de

Calmette e Guérin (Calmette, 1912b), eles descobriram que os bovinos vacinados e que adquiriram uma resistência contra a tuberculose ainda permaneciam com os bacilos latentes no organismo e possuíam a capacidade de eliminar em seus excrementos bacilos virulentos por meio dos órgãos excretórios (fígado, via bile e intestino). Os pesquisadores supunham que tal fenômeno também ocorria nos homens que permaneciam com a infecção latente, aparentemente, perfeitamente livres da doença, os considerando capazes de eliminar os bacilos pelas fezes. Devido a isso, afirmavam que a tuberculose podia se espalhar muito facilmente por viajantes europeus (Calmette, 1912b).

Os métodos de diagnósticos disponíveis no momento, principalmente a tuberculina, permitia detectar com alta precisão a existência da infecção escondida, considerada fonte perigosa de contágio, uma vez que não causava nenhuma suspeita. Por meio desse método era possível procurar nas cidades, aldeias, em cada família a existência de indivíduos contaminados, sendo possível determinar uma proporção dos índices de um determinado grupo étnico, localidades, entre outros. As informações coletadas não só eram valiosas porque poderiam ajudar a atrair o interesse das autoridades na ajuda de medidas de defesa, como também poderiam ajudar no esclarecimento dos modos de infecção (Calmette, 1912b).

Ao que concernia às estatísticas compiladas fora da Europa, havia poucas. Em vista disso, Calmette (1912b) pensou ser útil alargar este levantamento simultaneamente em muitas das colônias francesas, contando com a ajuda das tropas médicas coloniais e dos funcionários dos institutos Pasteur nas colônias.

Todas as informações sobre essa pesquisa foram coletadas de maneira uniforme, uma vez que cada um dos correspondentes recebeu uma provisão de tuberculina distribuída em 40 tubos de vacina, uma instrução e um questionário²². A instrução era para se inserir a tuberculina sob a derme de um dos braços, na região deltoide. Todos os indivíduos deveriam ser revistos, para controle, no quinto ou sexto dia, para evitar qualquer resultado duvidoso. Já o questionário procurou obter informações sobre a frequência e formas observadas de tuberculose e hábitos alimentares de crianças. Calmette pediu que as investigações fossem realizadas especialmente nas escolas e aldeias indígenas. Dentre as colônias com os dados

²² O questionário não foi publicado na obra original.

coletados temos o Senegal, colônia francesa na África, a Guiné Francesa, Costa do Marfim, Madagascar, Guadalupe, colônias francesas da Ásia, colônias francesas da Oceania (Calmette, 1912b).

Veterinários também enviaram relatórios indicando que por toda África Ocidental não havia a existência da tuberculose bovina. Tal fato não ocorria na África Oriental, que teve uma enorme propagação, provavelmente devido aos excrementos que se dissipavam durante as estações chuvosas. Nas colônias com grandes cidades industriais a propagação da tuberculose era facilitada devido às condições miseráveis da existência da população indígena (Calmette, 1912b).

O leite comercializado nas regiões onde havia a existência da tuberculose bovina poderia estar contaminado com bacilos, o que afetaria especialmente as crianças crioulas, uma vez que as indígenas eram quase que exclusivamente amamentadas com leite materno (Calmette, 1912b). As crianças indígenas eram amamentadas até os seis a oito meses, sendo continua até os dezoito meses para meninos e dois anos para meninas, mas atenuada pela dieta da família que incluía milho, arroz, peixe fresco, leite de ovelha ou cabra.

A tuberculose pulmonar foi a forma predominantemente encontrada da doença. Em indivíduos negros²³ as reações cutâneas positivas eram difíceis de serem encontradas (Calmette, 1912b).

A tuberculose bovina era desconhecida em toda Indochina, com exceção do Camboja, onde foi encontrada em animais importados da Europa. Na China a tuberculose era muito comum, Calmette (1912b) considerava que talvez mais do que na Europa. No Japão também existia uma frequência considerável. Na Oceania a tuberculose foi importada por europeus e chineses, e a intensidade da tuberculose em cada ilha devia-se ao número de europeus, sendo proporcionais (Calmette, 1912b).

De todos os dados obtidos durante as investigações, era possível chegar a algumas conclusões. Nas regiões tropicais a tuberculose não estava relacionada com o clima e sua frequência estava diretamente relacionada com a civilização, sendo extremamente raro entre populações indígenas e negras, porém a proporção

²³ No original, Calmette utiliza a terminologia raça preta para se referir aos negros.

de indivíduos infectados aumentava conforme aumentava a intensidade do comércio e imigração estrangeira. Nenhuma etnia²⁴ que habitava as colônias francesas tinha imunidade contra a infecção (Calmette, 1912b).

Dentre os que se mostraram mais sensíveis e em quem a tuberculose se manifestava em suas formas mais rapidamente fatais, Calmette (1912b) classificou da seguinte forma: polinésios da Oceania e negros do interior africano. Aqueles que nasceram e cresceram em regiões sem a tuberculose se contaminavam com mais facilidade quando expostos a um infectante, adquirindo tuberculose em suas formas mais graves (Calmette, 1912b).

Em vista do exposto, não era mais possível ao pesquisador apoiar a suposição de von Behring de 1903, a qual a tuberculose pulmonar em adultos era uma manifestação tardia da infecção, geralmente por bacilos de origem bovina, adquirida nos primeiros meses de vida, como resultado da ingestão de leite vaca contendo bacilos (Calmette, 1912b). Essa tese já havia sido refutada anteriormente, mas a obtenção de novos dados permitiu ao pesquisador reafirmar a refutação, já que, como mostraram os dados, era possível a contaminação de adultos saudáveis por bacilos da tuberculose.

1.12 Considerações sobre os bacilos, vacinação e tuberculose

Calmette e Massol (1913) mencionam uma tecnologia criada pelo médico e bacteriologista espanhol Jaume Ferran i Clua (1851-1929), a qual permitia pela passagem em uma cobaia, transformar os bacilos ácido-resistentes de Koch²⁵ em bactérias não ácido-resistentes e completamente atóxicos. Os bacilos enviados por Ferran não permitiram aos pesquisadores confirmarem os fatos relatados pelo autor.

Calmette e Guérin (1913a) relembram que o gado hipervacinado por injeções intravenosas de doses elevadas de bacilos bovinos crescidos em bile bovina,

²⁴ O termo original utilizado por Calmette é de raça.

²⁵ Heinrich Hermann Robert Koch (1843-1910) foi um médico, patologista e bacteriologista alemão. No ano de 1892 ele descobriu o bacilo da tuberculose, nomeado de bacilo de Koch.

eliminavam em seus excrementos alguns bacilos virulentos da tuberculose. Aos pesquisadores havia a probabilidade desses bacilos serem parcialmente expulsos por meio das vias biliares, hipótese baseada em experimentos anteriores. Em um coelho, foi possível encontrar bacilos na vesícula biliar após inoculação intravenosa. Em vista disso, se viram na necessidade de desempenhar a mesma pesquisa em bovinos, uma vez que era uma questão de grande importância para a profilaxia da tuberculose, assim como para saber se esses animais seriam capazes de propagar a infecção em celeiros ou fora deles, por meio de suas fezes (Calmette & Guérin, 1913a).

Os pesquisadores apenas conseguiriam realizar tal experimento se tivessem disponível gado saudável com fístula biliar permanente. Após conseguirem os animais, estes receberam bacilos da tuberculose de origem humana via veia jugular. Os bacilos eram eliminados em grande número pelo sistema hepático durante o período febril agudo da infecção. (Calmette & Guérin, 1913a). Como resultado desses experimentos com gado, foi possível averiguar que os animais com lesões tuberculosas podem ser fontes perigosas de contaminação da tuberculose, dependendo da origem e grau de virulência.

Todos os métodos de vacinação testados até então levaram aos mesmos resultados, se mostrando eficazes em certa medida, pois podiam dar ao gado uma resistência mais ou menos durável (Calmette & Guérin, 1913a). Os pesquisadores afirmavam que a resistência e tolerância a reinfecção por bacilos virulentos em animais vacinados se dava devido à capacidade desses em removerem os bacilos por processo de digestão intracelular, assim sendo, os bovinos que adquiriram imunidade eram os capazes de promover essa eliminação de forma mais eficaz (Calmette & Guérin, 1913a).

Calmette e Guérin (1913a) realizaram alguns experimentos²⁶ para determinar a duração do período de retenção dos bacilos virulentos nos gânglios linfáticos dos bovinos sujeitos aos seus métodos de vacinação por injeções intravenosas de bacilos bovinos atenuados na bile bovina.

²⁶ Esses experimentos estão detalhados no Capítulo 02.

Como conclusão dos experimentos, foi observado que os animais imunizados por injeções intravenosas de bacilos da tuberculose de origem bovina mitigados por série de culturas na bile bovina, ao serem infectados via intravenosa permaneciam em perfeita saúde, mantendo parte dos bacilos vivos e virulentos em seus gânglios linfáticos, a outra parte era expelida do corpo gradualmente (Calmette & Guérin, 1913a).

Nos experimentos anteriores, de vacinação por meio do trato digestivo utilizando doses baixas de bacilos bovinos normais e virulentos, mostrou-se que a imunidade cessava quando o gado deixa de ser portador de bacilos, levando os pesquisadores a considerarem que o estado de vacinação ou tolerância à bactéria da tuberculose persistia apenas em animais cujo organismo hospedava um pequeno número de bacilos. Também, que o mesmo poderia ser aplicado com relação à espécie humana. Era necessário agora determinar a duração dessa resistência de contaminação natural por coabitação de gados com bacilos da tuberculose. Resultados dessa pesquisa não poderiam ser estabelecidos se não após vários anos (Calmette & Guérin, 1913a).

Para Calmette e Guérin (1913b), muitos pesquisadores consideravam que a infecção via pulmonar tinha grande importância como porta de entrada dos bacilos da tuberculose. A fim de esclarecer essa questão, ambos realizaram uma série de experimentos que mostraram que a origem do muco pulmonar é intestinal. Assim, o diálogo com a contradição era constante, e influenciava suas pesquisas.

Calmette e Grysez²⁷ (1913) mencionaram que para muitos clínicos e patologistas a bactéria da tuberculose que entra no organismo revela sua entrada por meio de uma lesão local ou danos no nódulo linfático mais próximo, entretanto, ambos, juntamente com a colaboração de Guérin, trouxeram por meio de experimentos a inexatidão dessa premissa. O método escolhido pelos pesquisadores para a infecção consistiu em pingar em um olho de um porquinho da índia uma emulsão fina contendo soro fisiológico e cultura de bacilos. Como já haviam mostrado anteriormente, por meio desse processo sempre foi possível tubercular animais. Após três semanas do procedimento era possível observar

²⁷ Não foram encontrados dados sobre ano de nascimento e morte, assim como o nome completo e a nacionalidade do pesquisador.

lesões características no pescoço, porém nunca se observou qualquer lesão tuberculosa no olho e seus anexos, embora se consiga produzir uma infecção por meio desse local. Depois de alguns dias da infecção via ocular foi possível encontrar a presença de bacilos em diferentes órgãos (Calmette e Grysez, 1913). Então, assim como ocorria com a infecção artificial via intestino, não era produzida nenhuma lesão local pela infecção artificial via ocular.

Alguns dos órgãos (pulmões, baço, fígado, colo do útero) desses animais infectados artificialmente foram esmagados em solução salina fisiológica e inoculados em porquinhos da Índia, que foram sacrificados após três meses. Como resultado das autopsias foi possível perceber que os primeiros bacilos eram conduzidos pela circulação sanguínea e retidos nos pulmões, alguns eram encaminhados para o baço, antes que qualquer lesão tuberculosa visível aparecesse. Quanto mais se demorava a sacrificar as cobaias infectadas por via ocular, percebia-se o inchaço das glândulas do pescoço e frequentemente eram encontrados tubérculos nos pulmões. Gradualmente outros órgãos acabaram sendo tuberculizados, particularmente o baço e nódulos linfáticos traqueobrônquicos. Dessa forma, vê-se que nenhum produto de lesão local no ponto de penetração do bacilo ocorreu e a infecção linfática era, em geral, antes localizada no pescoço (Calmette e Grysez, 1913).

Calmette (1919) menciona ser de conhecimento que muitos micróbios que circulavam no sangue poderiam ser eliminados por meio do intestino, como mostrado pelo bacteriologista alemão Rudolph Emmerich (1856-1914) em 1885 com o *Vibrio cholera*. O ponto que Calmette coloca é que nenhum deles fez ligação com o canal biliar, uma vez que para o autor a presença dos bacilos no intestino poderia ser atribuída ao papel excretor do fígado. Com a finalidade de elucidar essa teoria, o pesquisador realizou uma série de experimentos²⁸ (Calmette, 1919).

Ainda de acordo com Calmette (1919), a técnica mais recomendável para pesquisa de bacilos da tuberculose nas fezes seria a mistura do material em água estéril, agitando várias vezes e deixando em contato durante 3 a 4 horas, centrifugando em seguida. A decantação deveria ser recolhida num recipiente estéril

²⁸ Esses experimentos estão descritos no Capítulo 02.

e diluída em solução salina fisiológica. Após fazer a filtragem em gaze estéril, estaria pronto para ser inoculado sob a pele das cobaias.

Vários estudos recentes à época destacavam a importância da infecção de tuberculose em bovinos por meio das fezes, assim como o papel das vias biliares na excreção de bacilos. Em vista dos resultados dos experimentos acima mencionados era possível admitir que os bacilos eram, com frequência, trazidos da corrente sanguínea para o fígado e em seguida eliminados pela bile. Nas fezes, ocorria a existência de organismos virulentos em grande número. A contaminação poderia ocorrer nos estábulos pelo leite das vacas, mesmo que de vacas saudáveis, por meio de partículas de fezes durante a ordenha, podendo afetar também humanos, por meio da possível contaminação de alimentos, roupas de cama, objetos. Para o pesquisador (Calmette, 1919) esse era sem dúvida o principal mecanismo em que a tuberculose se espalhava em fazendas, casas rurais, grande aglomerações.

Calmette e Guérin (1920) relembra que bacilos da tuberculose bovina cultivados em bile os atenuavam, assim como dava ao gado, a partir do 30º dia de vacinação, resistência durável para testar a inoculação feita via intravenosa. Ainda era necessário estabelecer a duração dessa resistência, porém os experimentos²⁹ estabelecidos para tal e iniciados em 1912 foram interrompidos em 1915, durante a ocupação alemã.

Por meio dos experimentos que conseguiram realizar antes da Primeira Guerra Mundial, constatou-se que novilhas vacinadas duas ou três vezes permaneciam livres da tuberculose, porém aquelas vacinadas apenas uma vez se contaminavam. As culturas de bacilos da tuberculose de origem bovina cultivados em bile fornecia uma espécie de bacilos perfeitamente tolerada pelo organismo de bovinos e outros animais susceptíveis à doença. Esse bacilo se comportava como uma verdadeira vacina. Essa tolerância ligada à presença de bacilos avirulentos no organismo, porém essa presença não era superior a 18 meses após uma única vacinação, mas poderia ser mantida por revacinação (Calmette & Guérin, 1920).

Os pesquisadores apontaram que seria desejável o julgamento desse método em um número maior de animais, para esclarecer seu valor prático, mas infelizmente

²⁹ Esses experimentos estão detalhados no Capítulo 02.

as condições econômicas da época exigiam esperar por condições mais favoráveis para a aquisição e preservação de um grande rebanho, uma vez que acontecia no período Primeira Guerra Mundial (Calmette & Guérin, 1920).

Já era sabido para Calmette, por causa de experimentos anteriores, que o bacilo da tuberculose de origem bovina cultivado em série sucessiva de bile de boi perde gradualmente sua potência, adquirindo propriedades biológicas específicas que podem ser usadas para obter resistência aos bacilos em bovinos e que tal resistência era mantida enquanto os animais retessem em seus órgãos linfáticos os bacilos atenuados vivos. A resistência cessava quando os bacilos fossem eliminados por vias naturais de excreção (Calmette, Boquet³⁰ & Nègre³¹, 1921).

No ano de 1921, os pesquisadores (Calmette, Boquet & Nègre, 1921) propuseram vários experimentos para observar os efeitos dos bacilos cultivados em bile no corpo de vários outros animais que não os bovinos. Primeiramente foram observados os efeitos de uma única inoculação desses bacilos em porquinhos da índia saudáveis. A infecção não ocorria e o animal permanecia em perfeita saúde. Em coelhos, injeções subcutâneas de pequenas doses também eram bem toleradas, mas a sensibilidade do animal para inoculações intravenosas foi claramente maior. Um cachorro pequeno também recebeu essas três doses desses bacilos e permaneceu em perfeito estado. Um macaco que recebeu duas doses, também permaneceu perfeitamente saudável. Os cavalos apresentaram uma maior sensibilidade ao bacilo quando comparados com pequenos animais de laboratório.

Os vários experimentos mostraram que os animais saudáveis inoculados com qualquer cultura de bacilos cultivados em bile tornaram, depois de algumas horas, sensíveis à tuberculina. “Temos realizados experiências para investigar se é possível, por meio do *Bacillus bilii*, introduzido no corpo, em dose única ou em doses repetidas várias vezes, dar a cobaia resistência apreciável à infecção experimental do bacilo virulento.” (Calmette, Boquet & Nègre, 1921, p. 569). Até aquele momento, os resultados obtidos mostraram que a inoculação de uma única dose parecia eficaz.

³⁰ Alfred Boquet (1879-1947) nasceu na França e foi um veterinário e biólogo.

³¹ Léopold Nègre (1879-1961) foi um médico e biólogo francês.

Em vista de publicações anteriores, Calmette (1922) viu a necessidade de produzir um texto sobre a inevitabilidade de se sacrificar vacas leiteiras que reagissem à tuberculina, uma vez que havia uma determinação de que todas as vacas, cujo leite fosse destinado ao consumo público, deveriam ser testadas. Aquelas que respondessem positivamente à tuberculina seriam reservadas ao matadouro. Para Calmette (1922) essa medida teria repercussões graves, pois diminuiria a produção de leite, o que geraria um aumento do preço de produto, comprometendo a alimentação de crianças, idosos e doentes. Em vista disso, e a luz do desenvolvimento recentemente da ciência, Calmette via a necessidade de se rever o papel da tuberculose bovina na contaminação humana.

Não havia dúvida para o pesquisador de que os interesses econômicos da agricultura deveriam incentivar os agricultores a proteger seus animais contra a infecção bacilar, para se evitar perdas como a redução da produção de leite, já que os animais infectados perdem muito peso. As informações sobre a incidência de tuberculose bovina em todo gado francês eram muito escassas. As últimas estatísticas do período revelaram uma situação ruim, pois nos departamentos em que as vacas leiteiras eram mantidas em habitação permanente, a proporção das que reagiam à tuberculina era superior a 40%, já as que pouco eram mantidas em estábulos, apresentavam uma proporção de 16%. Tal resultado pode ser decorrente da higiene precária nos celeiros (Calmette, 1922).

Calmette (1922) compara a contaminação do gado em celeiros com a coabitação familiar da espécie humana nas cidades populosas da Europa. A grande reação positiva à tuberculina do gado não indicava que todos apresentavam lesões tuberculosas graves ou eram susceptíveis de propagar a tuberculose, ela apenas revelava a existência de um surto bacilar, que na maioria, permanecia latente ao longo da vida. O êxito no combate à tuberculose no gado seria melhor se houvesse uma melhor organização dos estábulos com relação à higiene e o isolamento e abate precoce.

Parecia inaceitável para Calmette (1922) sacrificar vacas que não apresentavam nenhuma lesão tuberculosa e não apresentavam bacilos em seu leite, sob o pretexto de reagirem positivamente à tuberculina. Caso isso acontecesse a

produção de leite seria reduzida em um terço, aumentando o valor do leite e não trazendo nenhum benefício significativo para a saúde pública.

1.13 Desenvolvimento do BCG

Calmette, Nègre e Boquet (1922) utilizaram bacilos de uma série sucessiva de 14 anos cultivados em bile, que apareceram totalmente privados de virulência. O teste de infecção por tuberculose se mostrou quase inofensivo para as cobaias que receberam os bacilos da bile pela corrente sanguínea. Tal descoberta permitiu considerar a possibilidade de dar às cobaias, pelo menos por alguns meses, uma imunidade real contra a tuberculose experimental. Essa imunidade nunca foi conseguida por qualquer um dos métodos de vacinação tentados até o momento, dessa forma era necessário estudar um método melhor de introdução do bacilo e por quanto tempo ele persistia no organismo (Calmette, Nègre & Boquet, 1922).

Os pesquisadores realizaram uma série de experimentos para testar a imunização de coelhos por meio de vários outros canais. Os testes de vacinação em coelhos haviam começado em 1921, momento em que 11 coelhos receberam uma única injeção de bacilos cultivados em bile. Após 35 dias, três desses animais foram testados com inoculação intravenosa de bacilos virulentos da tuberculose bovina. Dois foram testados depois de 70 dias com a mesma dose de cultura virulenta. Os últimos seis coelhos foram divididos em duas séries, inoculados com os mesmos períodos citados anteriormente, mas com doses maiores. Dois coelhos foram utilizados como grupo controle, recebendo a mesma dose virulenta. O grupo controle morreu, apresentando lesões tuberculosas generalizadas (Calmette, Nègre & Boquet, 1922).

Ficou evidente que a inoculação intravenosa de bacilos cultivados em bile protege coelhos contra a infecção da tuberculose, mas essa proteção é conferida apenas em animais saudáveis. Houve também a tentativa de acompanhar a produção de anticorpos no sangue de um coelho inoculado, em 1922, com bacilos cultivados em bile, a injeção foi ministrada na veia marginal da orelha. A proporção de anticorpos aumentava por cerca de três meses após a injeção dos bacilos, depois

diminuía rapidamente. O desaparecimento dos anticorpos não indicava que todos os bacilos tinham sido reabsorvidos ou eliminados por vias naturais de excreção (Calmette, Nègre & Boquet, 1922), uma vez que eles poderiam permanecer no organismo por muito tempo em estado de vida latente.

Os experimentos de Calmette, Nègre e Boquet (1922) mostraram que os bacilos cultivados em bile eram capazes de dar a coelhos uma resistência clara a testes de infecção intravenosa por bacilos virulentos. Essa imunidade não era muito durável, mas talvez pudesse ser prolongada se renovada periodicamente a vacina, sendo necessários mais estudos para esclarecer essa questão.

Calmette e Guérin (1924) relataram que os animais contaminados apenas uma vez geralmente se mantinham a salvo, enquanto que aqueles que sofressem múltiplas infecções certamente iriam desenvolver a tuberculose. As pesquisas mostraram evidências de que os animais curados a ponto de não reagir à tuberculina eram capazes de receber bacilos virulentos fatais para um grupo controle. Tal fato os levou a orientar a pesquisa na obtenção da imunidade contra a tuberculose por meio de uma vacina introduzida no sistema linfático do corpo, via canais normais de infecção, ou seja, pelo trato digestivo, contendo bacilos atenuados, alterados ou privados de virulência.

O bacilo cultivado em bile foi o mais utilizado pelos pesquisadores, sendo bastante conhecido. Este se originou de uma cepa de bacilos bovinos muito virulentos, enviada por Nocard em 1908. Após 4 anos, os bacilos já não eram virulentos para os bovinos, mas ainda o eram para os cavalos. Depois de 13 anos de colheitas sucessivas ele foi completamente privado de sua virulência, mesmo em doses elevadas, para todas as espécies animais. Dessa forma, havia se tornado incapaz de causar a formação de tubérculos, seja por meio de inoculação subcutânea ou ingestão (Calmette & Guérin, 1924).

O objetivo era continuar a cultivar esses bacilos da tuberculose na presença de bile, fazendo-os crescer em um ambiente altamente alcalino e rico em lipídios, esperando que os envelopes bacilares fossem mais facilmente digeridos pelos fagócitos, ou pelo menos mais toleráveis por eles (Calmette & Guérin, 1924).

Estavam os cientistas na posse de um bacilo bovino avirulento, que perdeu toda sua capacidade de criar tubérculos, e como já mencionado, inofensivo para todos os animais, mesmo com injeção intravenosa de uma dose de 40 milhões de bacilos vivos. Foi com esse bacilo, agora designado para conveniência da linguagem de BCG (bacilo Calmette-Guérin), que se conduziram os experimentos para vacinas preventivas (Calmette & Guérin, 1924). Durante esses experimentos uma constatação foi clara, os animais vacinados sob a pele reagiam positivamente à tuberculina por mais tempo do que os animais vacinados nas veias. Em vista disso, a reação positiva à tuberculina não poderia ser considerada como apenas um critério de infecção, mas também um critério de imunidade (Calmette & Guérin, 1924).

A injeção sob a pele de bacilos da tuberculose enfraquecidos conferia uma resistência significativa à infecção subsequente por injeção intravenosa de bacilos virulentos, além de não causar nenhuma reação no local do ponto inoculado, quando a quantidade de bacilos não era muito grande (Calmette & Guérin, 1924).

Os pesquisadores (Calmette & Guérin, 1924) realizaram uma série de experimentos em bovinos sobre a inoculação subcutânea de BCG. Para tal dividiram novilhas de sete a oito meses em dois lotes, nenhuma das novilhas tinha tuberculose. O primeiro lote foi vacinado e o segundo serviu como controle. Decorrido 24 horas da inoculação, foi encontrado no tecido da conjuntiva uma massa edematosa que permaneceu no local da vacinação por seis meses, quando começou a desaparecer. A massa era sempre indolor. Após a vacinação, foram injetados bacilos virulentos e a maioria dos animais não apresentou aumento de temperatura, nem distúrbio de apetite. No grupo controle, a temperatura permaneceu alta, a tosse era comum, os movimentos respiratórios aumentaram, levando a morte.

Nesses animais vacinados via subcutânea era conferida uma capacidade maior de eliminar os bacilos virulentos, sendo, portanto, mais eficaz que a inoculação da vacina via intravenosa (Calmette & Guérin, 1924). Era possível fornecer aos bovinos uma imunidade superior a um ano por meio dessa vacina, além de evidenciar a perfeita segurança da mesma, uma vez que os bacilos perderam toda a capacidade de formar tubérculos, até mesmo em doses muito elevadas. A eventual eliminação, pelo leite ou intestino, não ofereceria perigo aos seres humanos ou outros animais, domésticos e selvagens. Essas eram características

importantes que os demais bacilos que estavam sendo testados por outros pesquisadores não possuíam, uma vez que a dispersão na natureza poderia causar inconvenientes, como o medo de transmitir a tuberculose entre outros animais. Com a vacina BCG, nada semelhante deveria ser temido (Calmette & Guérin, 1924).

A imunidade cessaria quando a simbiose deixasse de existir, ou seja, quando os bacilos utilizados na vacina fossem destruídos pelos processos de digestão celular normal. Essa questão da duração era discutida pelos autores, que apontaram como exemplo a vacina contra o antraz, que não durava mais de um ano, questionando, portanto, porque deveria ser diferente com a imunização artificial contra a tuberculose. Eles propunham uma revacinação anual, mesmo que os experimentos tenham mostrado que a resistência era conferida por 18 meses, eles afirmavam ser melhor não esperar até o limite de sua eficácia (Calmette & Guérin, 1924).

Calmette, Boquet e Nègre (1924) continuaram os estudos sobre a vacinação contra a tuberculose experimental com o bacilo não virulento cultivado em bile (BCG), testando agora em pequenos animais, como porquinhos da índia e coelhos. Chegaram à conclusão que era possível conferir uma resistência a esses animais por meio de uma única injeção subcutânea, intravenosa ou intramuscular. Neles, o local da injeção da vacina causava uma lesão, em vista disso, os pesquisadores preferiram optar pelo processo ocular, proposto e estudado por Calmette desde 1913. Trata-se simplesmente da introdução de uma gota no olho do animal, e por meio desse método nenhuma lesão local era gerada.

Para os pesquisadores a rota mais comum de infecção por tuberculose, em seres humanos e demais animais, ocorria pelo trato gastrointestinal, devendo ser, portanto, o caminho da vacinação. Baseados nessa premissa, realizaram uma série de experimentos: porquinhos da índia, com idades entre 8 a 30 dias, receberam por meio de pipetas, refeições de BCG com 24 horas de intervalo. Todos do grupo controle morreram com lesões tuberculosas generalizadas. Dos animais vacinados, alguns morreram sem lesões tuberculosas, outros com linfonodos mesentéricos e alguns sobreviveram. Concluíram que a ingestão prévia de vacina permitia aos porquinhos da índia jovens resistirem mais do que os animais controle a um teste de

infecção artificial. Se a infecção tivesse sido mais discreta, a maioria das cobaias teria resistido (Calmette, Boquet & Nègre, 1924).

Experiências semelhantes foram realizadas com coelhos jovens, com idades entre 15 e 20 dias. Após o teste com refeições infectantes, o grupo controle foi sacrificado e todos apresentavam adenites mesentéricas. Dos vacinados, alguns também possuíam adenites mesentéricas, menos pronunciadas do que as do grupo controle e os sobreviventes se mantiveram em perfeita saúde. Em vista do exposto, deduziram que a inoculação de BCG pela boca confere, em porquinhos da índia e coelhos jovens, uma resistência considerável a infecções realizadas artificialmente pela mesma via. Os pesquisadores inferiram que essa resistência poderia ser maior contra infecções naturais (Calmette, Boquet & Nègre, 1924).

Calmette pediu então para o pesquisador Wilbert, dirigente do Instituto Pasteur de Kindia, na Guiné, para realizar uma série de experimentos com macacos de várias espécies, a fim de se estabelecer se a vacinação contra a tuberculose por BCG engolidos os protege, e qual, se houver, a duração dessa proteção.

Calmette *et al.* (1924) descrevem que a atenuação do bacilo da tuberculose bovina foi obtido por um processo que ainda não havia sido empregado em nenhum agente patogênico. Tal processo envolvia o crescimento da bactéria da tuberculose em uma série ininterrupta na presença de bile de boi para modificar sua constituição hereditária e físico-químicas, fazendo-as crescer em um ambiente altamente alcalino e rico em lipídios. Após 230 culturas sucessivas, que teve duração de 13 anos, a cultura se tornou inofensiva, mesmo em doses elevadas, para todas as espécies animais, incluindo macacos, não causando formação de tubérculos por inoculação intravenosa, subcutânea ou por ingestão. Com a finalidade de proteger suas qualidades, os bacilos foram transferidos para o meio de cultura da época, sem a bile, uma vez que os matinham avirulentos, mas preservava seus elementos constituintes, estimulando a formação de anticorpos nos organismos dos animais aos quais eram injetados. A este bacilo deram o nome de BCG, conforme já explicitado.

Os esforços para a utilização de bacilos mortos, atenuados por aquecimento ou pela ação de produtos químicos não levaram Calmette *et al.* (1925) a resultados

satisfatórios. Relembra que a imunidade bacilar estava relacionada com a presença de bacilos em estado de vida latente no organismo. Se estes bacilos fossem virulentos poderiam determinar a formação de tubérculos, não podendo então, serem utilizados para conferir imunidade, sendo necessário que as bactérias, estando vivas, fossem inofensivas para todas as espécies, mas que preservassem sua capacidade de fornecer resistência suficiente para futuras infecções.

Calmette *et al.* (1924) mencionaram que como a imunidade cessava quando a simbiose promovida pela vacinação acabava, de acordo com os testes, nos bovinos esse processo ocorria ao final do segundo ano e no sexto mês em porquinhos da Índia e coelhos. Como a vacina tem esse tempo de duração, ela deveria ser repetida a cada ano no gado, como geralmente era feito para a prevenção do antraz. Os cientistas afirmavam que eliminando gradualmente os adultos não vacinados e mantendo apenas os vacinados, seria possível expurgar a tuberculose, dentro de cinco anos, nas fazendas previamente infectadas.

Os testes que continuavam fazendo no Instituto Pasteur de Paris e seus subsidiários forneciam a mesma segurança e certeza de que a vacina era eficaz (Calmette *et al.*, 1924). Um dos experimentos foi o confinamento de um macaco em um ambiente contaminado. Numa mesma gaiola foram reunidos três macacos no ano de 1923, um foi vacinado, outro infectado com bacilos da tuberculose humana e o último serviria como controle. Quatro meses depois o animal controle morreu, mostrando grandes lesões tuberculosas em sua autópsia, no quinto mês veio a falecer o macaco infectado, com lesões quase idênticas ao do macaco citado anteriormente, já o vacinado permaneceu em boas condições (Calmette *et al.*, 1924).

Os experimentos com macacos proporcionaram evidências da segurança completa da vacina BCG em todas as espécies de macacos, além de mostrar que poderiam proteger esses animais por mais de um ano e que em todas as idades era possível conferir a proteção (Calmette *et al.*, 1925). Muitos experimentos foram realizados na França, com a colaboração de 31 veterinários, responsáveis por vacinar bezerros. Não houve o relato de nenhum incidente, evidenciando, novamente, a segurança e eficácia protetora da vacina BCG. Mostrou também a possibilidade de conferir aos organismos adultos que reagem negativamente à tuberculina, uma resistência semelhante (Calmette *et al.*, 1925).

1.14 Vacinação com BCG

Houve a tentativa de imunizar crianças cujos pais permitiram. O fato ocorreu na maternidade de *Charité*, localizada em Paris. Foi administrada com uma colher a vacina BCG, durante três vezes nos primeiros nove dias de vida. O procedimento foi realizado em mais de 217 crianças, mas 39 acabaram não retornando, uma vez que se tratavam de filhos de pais que viviam no subúrbio ou de sem-teto. Das 178 crianças que permaneceram sob o controle dos pesquisadores, nove faleceram de causas diversas e o desenvolvimento das demais foi regular (Calmette *et al.*, 1924).

Calmette *et al.* (1924) reconheciam não terem sido os primeiros a tentarem vacinar humanos contra a infecção tuberculosa. Se fosse verdade a premissa aceita por Calmette no início de seus estudos, de que a grande maioria dos casos de tuberculose na adolescência e idade adulta eram manifestações tardias da infecção adquirida desde o berço, deveria haver um grande interesse por imunizar o mais rapidamente possível após o nascimento.

Uma série de laboratórios em várias regiões do mundo, como Estados Unidos, Bélgica, Suíça, Inglaterra e Escócia, receberam a vacina e estavam a estudar a cultura de bacilos BCG. No Instituto Pasteur da África Ocidental francesa, a maternidade de *Dakar* administrou a vacina em 218 crianças negras, sem a ocorrência de nenhum incidente, apenas foram marcadas por uma marca vermelha no ombro em que foi administrada a vacina (Calmette *et al.*, 1925).

A conclusão que Calmette *et al.* (1925) tiraram desses relatos era que poderiam afirmar, sem medo, de que o método de prevenção descrito por eles se mostrou completamente seguro para todas as crianças vacinadas há mais de três anos, e que pelo menos nesses casos, fornecia uma proteção eficaz.

Durante os anos de 1924 e 1925, mais de duas mil crianças já haviam sido vacinadas em toda França e Bélgica. Calmette *et al.* (1925) salientam que a passagem de bacilos da tuberculose via placenta poderia acontecer, como era possível observar clinicamente em humanos e outros animais, porém, era extremamente rara.

A introdução da vacina BCG na prática e particularmente depois de 1926, fez médicos e veterinários se surpreenderem ao perceber que as crianças e animais vacinados eram geralmente muito mais fortes do que os não vacinados (Calmette & Saenz³², 1933). Houve a percepção de que mortalidade global de vacinados diminuiu consideravelmente, levantando o questionamento se a mortalidade por tuberculose na infância pode ter sido muito maior do que os índices estatísticos, pois algumas mortes atribuídas a outras doenças poderiam ter ocorrido de fato pelo bacilo da tuberculose. Esta era, no entanto, uma suposição da qual não havia nenhum fato experimental. Ou a imunidade conferida aos indivíduos que receberam a vacina fornecia imunidade para várias infecções totalmente estranhas à tuberculose. Para os pesquisadores (Calmette & Saenz, 1933) essa segunda hipótese parecia a mais viável, uma vez que tinha sido observado que bovinos jovens vacinados possuíam uma resistência maior à pneumonia. O relato e artigos de diversos médicos do período possibilitou a conclusão de que o BCG protegia contra a infecção natural de pneumococos.

A imunidade conferida às crianças vacinadas pelo BCG chamou a atenção de muitos pediatras, visto que a mortalidade global dos vacinados era muito menor do que a das crianças não vacinadas.

Demonstra-se por meio de experiências com animais, como também por observação clínica de sujeitos prevenidos contra a infecção de tuberculose por injeção subcutânea ou intravenosa, ou por absorção da vacina BCG oral, que depois de algumas semanas, são resistentes não só a infecções secundárias de bacilos virulentos, mas também a várias infecções externas à tuberculose, tais como as determinadas por estreptococos, pneumococos...” (Calmette & Saenz, 1933, p. 445).

Posteriormente aos primeiros testes realizados no hospital *Charité* em 1921, Calmette (1933) ainda permaneceu com a recomendação da vacinação de recém-nascidos, conforme tinha praticado com Guérin em bezerros jovens. Era necessário conferir a proteção no menor tempo possível após o nascimento, uma vez que quase todos os bebês infectados nos primeiros três meses sucumbiam. Adendo a isso, foi mostrado que o intestino de crianças nas duas primeiras semana de vida era altamente permeável aos componentes microbianos, já que nesse momento da vida,

³² Abelardo Saenz (1897-1975) foi um médico e biólogo uruguaio.

a mucosa intestinal ainda não era diferenciada, permitindo que microrganismos atravessassem facilmente para a circulação linfática. Era necessário levar em consideração essas condições favoráveis à vacina. Não obstante, ainda havia o fato de que a ingestão do BCG não provocava nenhuma lesão, como acontecia com injeção subcutânea, que causava uma reação térmica, enquanto o outro método era inofensivo (Calmette, 1933).

Em vista do exposto, esse método foi difundido rapidamente pela França e em muitos outros países. Centenas de milhares de crianças ingeriram a vacina sem incidentes, auxiliando a remover praticamente a mortalidade e reduzir a tuberculose infantil. Calmette (1933) propôs que para garantir a imunidade em pacientes que não tinham sido vacinados nos primeiros dias após o nascimento, a forma mais segura de se proceder era, como na maioria das vacinas microbianas, pela inoculação subcutânea ou intramuscular. A via subcutânea teve imediatamente muitos adeptos, mas desenvolvia-se, em geral, uma reação alérgica que durava cerca de três meses, provocando um pequeno abscesso, que era inofensivo, mas, segundo o pesquisador, era desagradável e inconveniente. Para tentar evita-lo, procurou-se ministrar a vacina via intramuscular ou intradérmica (Calmette, 1933).

Um grande benefício da vacinação via inoculação parenteral³³ era que ela requeria apenas uma única dose baixa do BCG. O pesquisador ainda pontua que a vacinação via injeção era pouco aceita pelas famílias, existindo um grande interesse na tentativa de substituir essa técnica pela administração em recém-nascidos. A eficácia preventiva do BCG permanecia substancialmente igual em todos os métodos utilizados. Calmette (1933) não descartava a importância com relação às medidas de higiene, para tentar evitar o contato repetido e infecções massivas.

Calmette (1933) via a necessidade de considerar a prática da vacinação contra a tuberculose regular na prevenção de alguns grupos, especialmente aos vulneráveis à tuberculose, como os agentes de serviços hospitalares, enfermeiros, estudantes de medicina, entre outros. Investigações do período, realizadas especialmente nos Estados Unidos, mostraram que os estudantes ingressavam nos estudos com reação negativa à tuberculina, mas ao final do estudo se tornavam positivos, com muitos adquirindo a tuberculose. Isso evidenciava a necessidade da

³³ Inoculação via intravenosa.

exigência de um exame medico antes da entrada dos alunos nas escolas medicas, e caso a reação à tuberculina fosse negativa, o estudante deveria receber a vacina BCG via subcutânea ou pela boca.

Esse foi o processo de conjecturas e refutações que Calmette, juntamente com alguns colaboradores, especialmente Guérin, passaram para o desenvolvimento do bacilo BCG, que pode ser usado como vacina contra a tuberculose. Desde os estudos iniciais sobre a origem da tuberculose pulmonar até o desenvolvimento e distribuição da vacina foram vinte e oito anos de pesquisas.

CAPÍTULO 2 – A CONCEPÇÃO DA VACINA BCG: ASPECTOS METODOLÓGICOS

Ao iniciar suas investigações sobre a tuberculose, Calmette preocupou-se com sua origem, sendo essa sua indagação preambular, principalmente porque havia uma dicotomia de opiniões entre os pesquisadores e cientistas da época, posto que no debate acadêmico, havia aqueles que defendiam que a origem da tuberculose pulmonar acontecia no trato respiratório, sendo composto pela maioria, e os que defendiam que esse início se dava no trato digestivo, mais especificamente no intestino. Para Calmette, este não era um impasse de difícil resolução, pois para ele e seu parceiro, Guérin, a experimentação poderia dar conta de responder a essa questão.

Essa é a primeira série de experimentos que apresentaremos detalhadamente. Ela tinha como objetivo descobrir a origem da tuberculose pulmonar. Para tal, os pesquisadores utilizaram a cabra como animal de pesquisa, pois ela possuía uma resistência natural à tuberculose. A proposta se baseava na observação dos efeitos da ingestão e inoculação de bacilos da tuberculose de origens diversas.

A investigação inicial centrou-se na observação da possível ocorrência de infecção natural de cabras jovens pelo leite das mães cujos úberes haviam sido artificialmente infectados com bacilos da tuberculose. Trabalhos anteriores, como de Nocard, mostraram a facilidade desse procedimento, seja com produtos tuberculosos ou com emulsões de cultura, injetados com uma seringa adaptada nos úberes dos animais (Calmette & Guérin, 1905).

Calmette e Guérin (1905) infectaram úberes de cabras, em estágio avançado de gestação, com culturas de tuberculose de várias origens, como a bovina, humana e aviária. A cultura de tuberculose bovina veio do laboratório de *Marboug*, por meio de von Behring, em outubro de 1902. Tal cultura sempre mostrou uma alta virulência em todos os animais de laboratório. Já a cultura de tuberculose humana foi isolada de uma criança de oito anos e de acordo com os pesquisadores, nunca passou através do corpo de qualquer animal.

Os animais infectados apresentaram reações diversas de acordo com a origem dos bacilos da tuberculose. Aquelas infectadas com bacilos de origem bovina morreram em um prazo de 60 dias, com sintomas de uma intoxicação grave. Nas autópsias, a maioria possuía dano local, mas sem extensão a qualquer outro órgão. A tuberculose humana causou inflamação muito menos grave, pois as úberes incharam lentamente e tornaram-se dolorosas, mas ao final de vinte a trinta e cinco dias a secreção de leite se restaurou e logo elas diminuíram de volume. O leite continha bacilos, no entanto dispunha de uma aparência saudável. Os animais reagiam ao teste de tuberculina mesmo após três meses do procedimento de infecção com bacilos.

O bacilo aviário provocou reações mais benignas, uma vez que as lesões adquiriram a aparência de uma infecção por bacilo humano. O aleitamento se manteve normal e após dois meses o teste de tuberculina não provocava nenhuma reação. O leite continha bacilos detectáveis até o vigésimo terceiro dia.

Por meio desses primeiros passos, foi possível a Calmette e Guérin (1905) depreenderem a alta virulência das culturas de bacilos da tuberculose de origem bovina, percepção esta de extrema importância, uma vez que justificou a utilização dessas culturas como base para a elaboração da vacina.

Com essa série de experimentos também é possível perceber que a infecção dos úberes com bacilos da tuberculose, independentemente de sua origem, provocava apenas uma lesão local, de intensidade variada de acordo com o tipo de bacilo. Entretanto, apenas o órgão infectado apresentava lesões, não havendo extensão das mesmas para outros órgãos, como os pulmões, objeto de interesse nessa questão.

Como as reações nos animais variaram de acordo com a origem do bacilo introduzido, era possível agora determinar a origem destes (bovina, humana ou aviária) por meio desse procedimento de inoculação em úberes de cabras. As reações provocadas para cada tipo de bacilo seriam diferentes, proporcionando sua identificação.

Segue abaixo um pequeno esquema desse experimento e seus principais resultados.

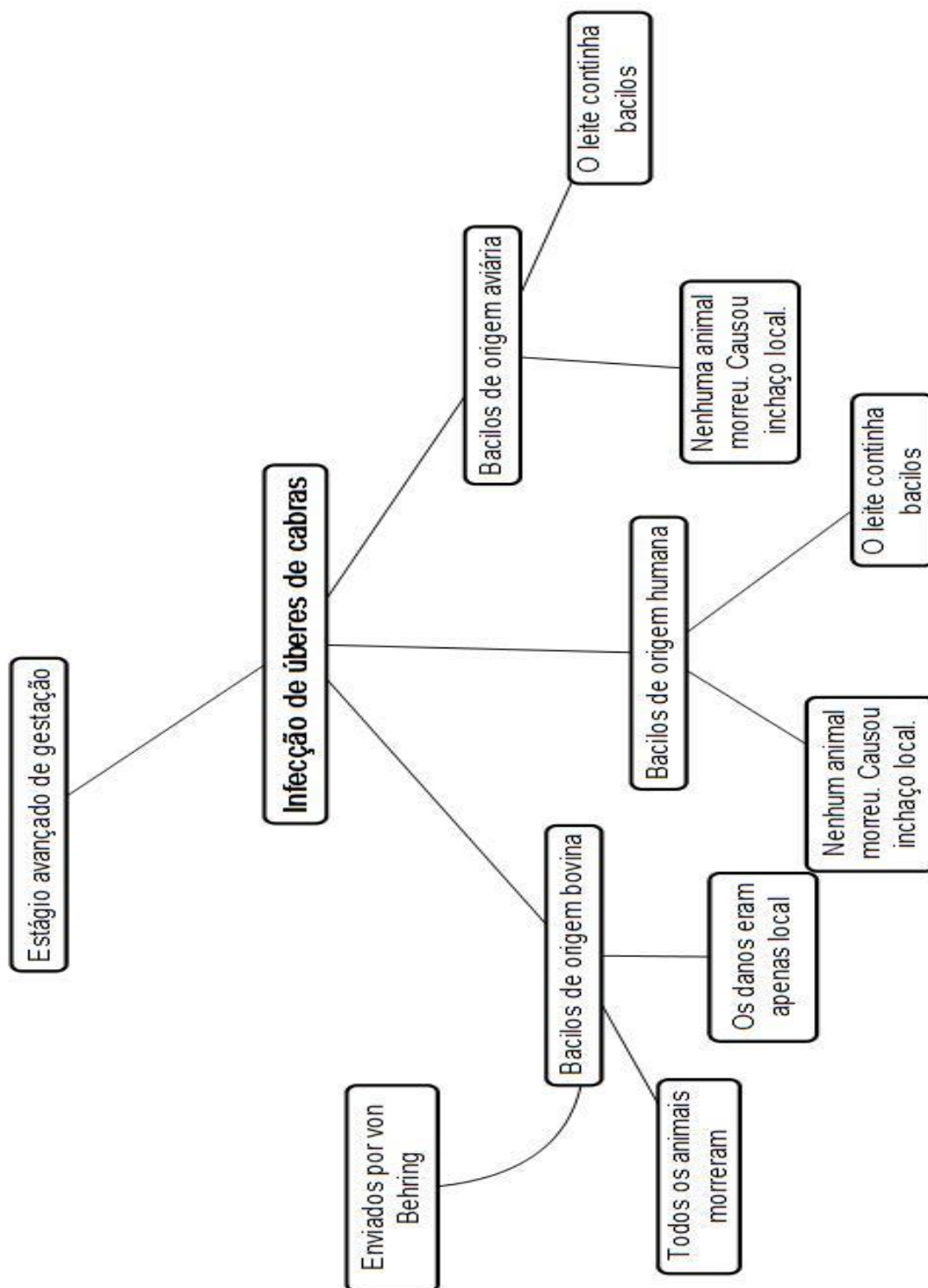


Figura 02: Experimento de infecção de úberes de cabras com culturas de bacilos da tuberculose de origens diversas.

Em seguida a essa primeira série de experimentos, Calmette e Guérin (1905) realizaram pesquisas com cabritos nascidos de cabras com tuberculose bovina, humana, aviária e pseudo-tuberculose. Como foi possível observar no experimento supracitado, as cabras com tuberculose eliminavam bacilos no leite e os pesquisadores se propuseram a estudar essa questão.

Mães e filhotes foram isolados, esses últimos foram mantidos livres para mamarem a vontade. Dos cabritos alimentados pelas mães cujos úberes foram infectados com tuberculose bovina, um foi sacrificado depois de quarenta e cinco dias do nascimento e o outro veio a falecer no quinquagésimo primeiro dia após o nascimento. O filhote sacrificado pouco se desenvolveu, possuindo uma aparência e peso de um filhote de aproximadamente treze dias, com uma barriga volumosa e uma adenopatia intensa em todos os nódulos linfáticos mesentéricos, mas nenhuma lesão foi encontrada no pulmão. Sua mãe morreu decorridos cinco dias de seu sacrifício, com grandes lesões nas mamas. Seu leite continha bacilos em grande quantidade e altamente virulento para as cobaias.

O segundo filhote apresentava o mesmo desenvolvimento do anterior e a autópsia revelou as mesmas características, entretanto foram encontrados em seus pulmões tubérculos contendo bacilos. Sua progenitora faleceu vinte e sete dias antes, seu leite continha uma alta quantidade de bacilos.

A segunda etapa de experimentos dessa mesma série se deu com cabritos de mães infectadas com culturas de tuberculose humana. Seguindo o mesmo procedimento anteriormente citado, um filhote foi sacrificado quarenta e cinco dias após o nascimento, ele havia permanecido com sua mãe cujo leite continha bacilos por todo tempo. O outro cabrito foi separado de sua mãe com quarenta e cinco dias de convivência e sacrificado com três meses e vinte e dois dias de vida.

A autópsia do primeiro animal revelou uma adenopatia mesentérica, em que os gânglios eram volumosos e duros. Duas cobaias foram inoculadas com produto de um gânglio maior e elas permaneceram saudáveis durante quatro meses, após esse período foram sacrificados e não mostraram qualquer tipo de dano, não havia tubérculos nos pulmões.

O segundo filhote, que também havia recebido leite materno por quarenta e cinco dias, manteve-se fraco e doente, adquirindo um estômago inchado e diarreia após algumas semanas do nascimento. Em sua autópsia foram encontrados linfonodos mesentéricos menos volumosos do que do filhote anterior. Neles foi encontrado pus, mas não foram encontrados bacilos. Cobaias inoculadas com produtos desses linfonodos permaneceram perfeitamente saudáveis.

As cabras infectadas com bacilos de tuberculose aviária tinham raramente bacilos em seu leite após quinze dias do parto. Dos dois cabritos nascidos, um foi desmamado quarenta e cinco dias após o nascimento e sacrificado com três meses e meio de idade. A autópsia revelou uma enorme adenopatia mesentérica, as quais os pesquisadores nunca tinham visto antes. Não havia tubérculos, mas sim uma massa fibrosa densa e muito espessa, não sendo encontrado nenhum bacilo nela, além de que sua inoculação em cobaias não causava nenhum efeito. Os demais órgãos se encontravam saudáveis. O segundo filhote foi sacrificado com quarenta e cinco dias de vida e na autópsia foram encontrados linfonodos mesentéricos volumosos e rígidos que ao corte foi evidenciado bacilos de tuberculose dispersos.

Dois cabritos nascidos de mães cujos úberes foram infectados com culturas de pseudo-tuberculose, ingeriram desde o nascimento leite contendo tais bacilos em abundância. Os bacilos desapareceram quinze dias após o início da lactação. Cobaias inoculadas com esse leite morreram dois meses mais tarde, com pequenos abscessos no local da injeção, mas sem lesões viscerais.

Com os resultados obtidos, os pesquisadores se depararam com outra dúvida. Ambos se propuseram a estudar a hipótese da tuberculose pulmonar ser de origem intestinal, esses experimentos são resultados disso. Porém, não foram todos os cabritos que desenvolveram a doença por meio da ingestão de leite contendo bacilos.

Como foi possível perceber durante o primeiro capítulo, as condições para que os animais adquirissem tuberculose pulmonar via intestinal eram bastante específicas. Os pesquisadores não tinham conhecimento ainda dessas condições, por isso essa série de experimentos gerou algumas dúvidas nos mesmos.

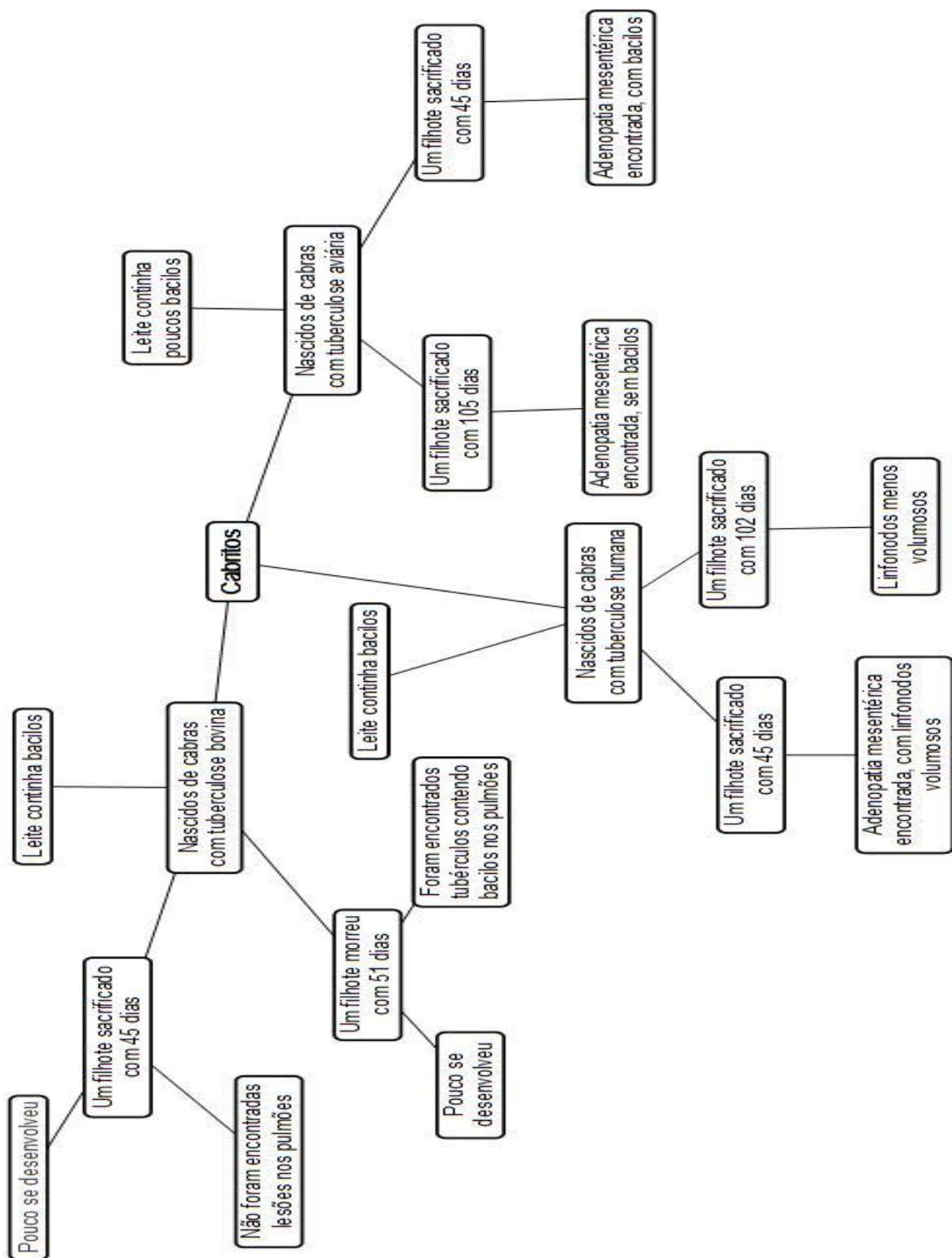


Figura 03: Experimento com cabritos nascidos de mães com tuberculose de origens diversas.

Com os resultados obtidos, os pesquisadores se depararam com essa outra dúvida. Ambos se propuseram a estudar a hipótese da tuberculose pulmonar ser de origem intestinal. Calmette & Guérin (1905) infectaram animais diretamente no aparelho digestivo e todos adquiriram lesões tuberculosas nos pulmões. Tal fato teria confirmado a tese acreditada por uma minoria, de que a origem da tuberculose pulmonar era intestinal.

Entretanto, essa confirmação se deu pela inoculação de bacilos diretamente no trato digestivo, fazendo surgir a dúvida se também haveria a formação de tubérculos pela ingestão de produtos tuberculosos. Buscando responder a esse questionamento, os pesquisadores realizaram outros experimentos.

Utilizaram quatro caprinos saudáveis e uma grande quantidade de bacilos da tuberculose bovina dispostos entre duas fatias de pão, formando literalmente um sanduíche de bacilos. Os animais foram alimentados com o preparado mencionado acima e passados dois meses do procedimento eles foram submetidos ao teste da tuberculina e não houve nenhuma reação (Calmette & Guérin, 1905).

Tais cabritos foram sacrificados e não apresentavam nenhuma lesão tuberculosa, gerando uma evidência de que as lesões tuberculosas encontradas em animais adultos resultariam de uma evolução tardia de tuberculose adquirida na infância e decorrente de uma infecção intestinal. Os pesquisadores foram convencidos a pensar nisso, uma vez que essa era uma tese presente das discussões do período, além do fato de parecer quase impossível de um animal não adquirir tuberculose pela ingestão de uma alta concentração de bacilos da tuberculose bovina envoltos em pão. Experimentos posteriores, realizados pelos próprios pesquisadores, mostraram o equívoco de suas confirmações.

O importante, a saber, sobre os experimentos iniciais acerca da origem da tuberculose pulmonar é que por meio deles Calmette e Guérin chegaram à conclusão de que a origem era intestinal e resultado de uma infecção ocorrida na infância. Essa segunda premissa foi aceita em decorrência da grande quantidade de bacilos da tuberculose ingeridos (entre fatias de pão) pelos animais adultos, sem que nenhum deles adquirisse a doença.

A seguir segue um esquema simplificado das conclusões encontradas pelos pesquisadores sobre a origem da tuberculose pulmonar.

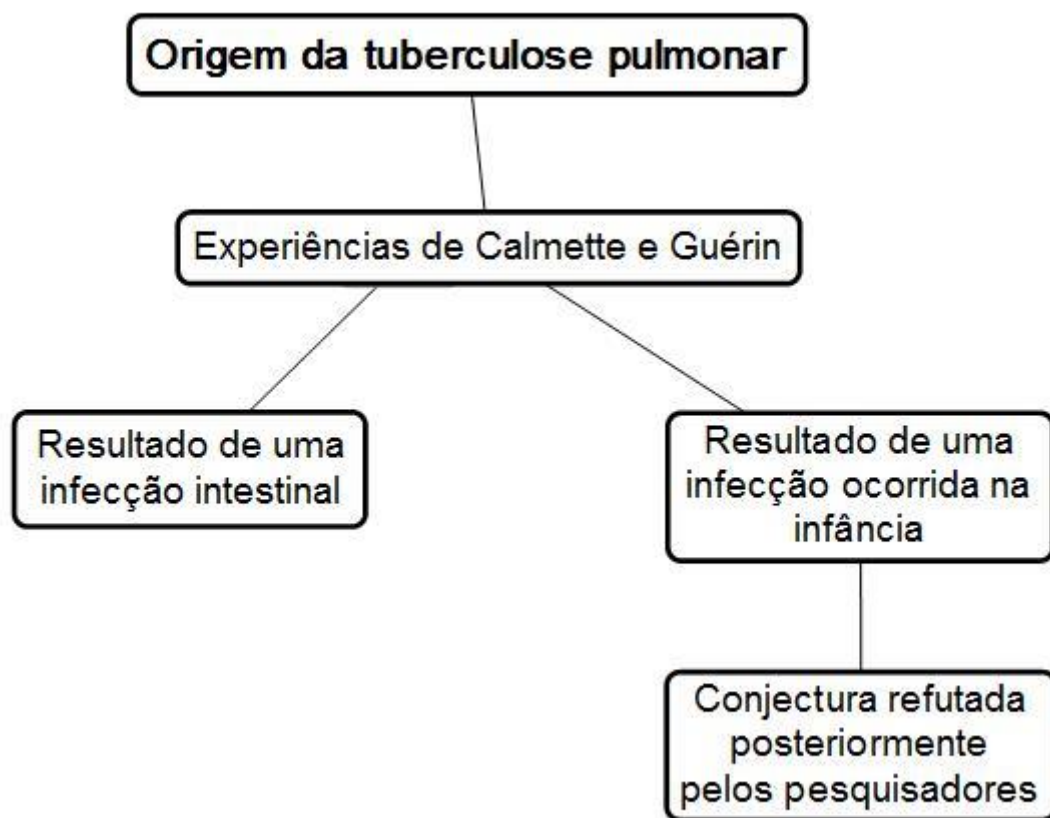


Figura 04: Conclusões acerca da origem da tuberculose pulmonar.

Para testar a hipótese de que a tuberculose pulmonar era resultado de uma infecção ocorrida na infância, Calmette e Guérin (1906a) realizaram uma nova série de experimentos. Ao longo na análise desse episódio histórico é possível perceber que os pesquisadores realizaram constantemente esse movimento, de revalidação de suas conclusões por meio de novos experimentos.

Para esses experimentos foram utilizadas quatro vacas com idades de 3, 4, 5 e 7 anos. Todas apresentaram resultado negativo quando expostas ao teste de tuberculina. Os animais foram infectados via aparelho digestivo com doses contendo

quantidades diferentes de bacilos da tuberculose. Esse aumento gradativo das quantidades tinha como objetivo determinar qual delas seria certamente infecciosa.

Decorridos um mês, todas as vacas reagiram ao teste de tuberculina. O animal mais velho (sete anos) foi sacrificado e autopsiado logo após o abate, foram encontrados tubérculos nos pulmões. A vaca de quatro anos também foi abatida, e o resultado da autópsia foi idêntico ao anterior (Calmette & Guérin, 1906a).

Se anteriormente era aceito que a tuberculose pulmonar era resultado de uma infecção ocorrida na infância, esses experimentos mostraram que era possível a animais adultos contraírem a tuberculose mesmo que nunca tivessem entrado em contato com os bacilos anteriormente.

Como os pesquisadores já tinham respondido qual era a origem da tuberculose pulmonar e por qual via de contaminação ela ocorria, eles realizaram outra série de experimentos tendo em vista alguns questionamentos levantados por eles, como sobre o tempo em que a imunidade era conferida após uma infecção artificial e única via trato gastrointestinal, assim como se a imunidade poderia ser conferida se utilizando do mesmo meio, mas com a ingestão de duas refeições espaçadas de bacilos da tuberculose atenuados.

Para testar esses questionamentos, Calmette e Guérin (1907) utilizaram oito bovinos jovens, com idade entre 7 a 10 meses, sendo seis da raça flamengo e dois da holandesa. Todos foram previamente testados com tuberculina e não apresentaram reação. Os animais foram divididos em dois lotes, o primeiro continha dois animais, que ingeriram via tubo esofágico quatro doses sucessivas, contendo bacilos virulentos de origem bovina, de cinco em cinco dias. O segundo lote, composto de seis animais, recebeu a mesma dosagem e da mesma cultura, porém apenas uma vez. Os animais foram mantidos isolados e protegidos contra contaminação.

Após 16 dias da quarta refeição infectada, os dois animais do primeiro lote reagiram à tuberculina, o mesmo resultado foi obtido depois de um, três e cinco meses. No final do sexto mês os animais foram sacrificados e as mostras de autópsia evidenciaram lesões tuberculosas espalhadas por toda a cadeia de linfonodos mesentéricos. Dos seis animais do segundo lote, apenas um respondeu

ao teste de tuberculina nos primeiros 30 dias após a ingestão de uma única dose virulenta e após o terceiro mês todos deram reação negativa ao teste, “os animais do segundo lote ... permaneceram livres, não foram infectados (Calmette & Guérin, 1907, p. 527).

Para assegurar os resultados, os pesquisadores decidiram interferir novamente com uma sonda nos animais do segundo lote, 75 dias após a primeira refeição, com uma dose dupla de bacilos bovinos virulentos, ao mesmo tempo em que utilizavam um terceiro lote de nove bovinos da mesma idade para servir como grupo controle. Após três meses, o teste de tuberculina apresentou reação negativa para os 15 animais. Era possível depreender que uma única dose de bacilos da tuberculose virulentos introduzidos via trato digestivo de bovinos não causava a doença e era o bastante para conferir aos animais certa imunidade, uma vez que o teste de tuberculina deu negativo, evidenciando que os animais não haviam sido infectados pelas bactérias.

Posteriormente, Calmette vai perceber que o resultado positivo ao teste de tuberculina não significava apenas que o animal tivesse contraído a doença, poderia representar que o animal havia entrado em contato com os bacilos e estes poderiam estar em seu organismo em um estado de vida latente.

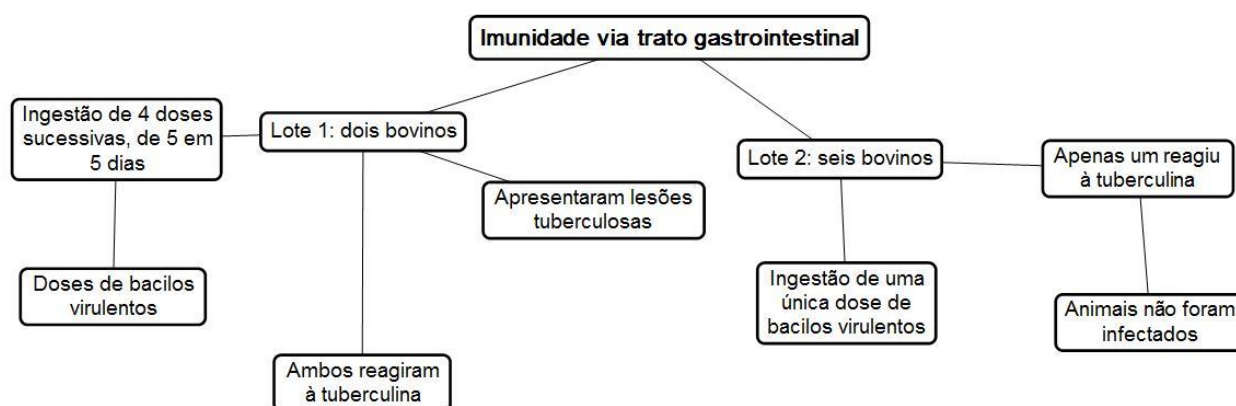


Figura 05: Experimento sobre a obtenção de imunidade com refeição (ões) de culturas de bacilos virulentos.

Como os pesquisadores precisam garantir a infecção para testar que os animais utilizados anteriormente em testes de vacinação estariam de fato vacinados, eles pesquisaram um método que fosse eficaz para esse objetivo, pois não poderia haver a dúvida se o animal estava realmente vacinado contra a tuberculose ou se o método de infecção falhou. Isso poderia causar resultados desastrosos.

O método³⁴ utilizado por eles foi obtido dessa série de experimentos. Utilizaram 40 porquinhos da índia adultos pesando entre 500 a 800 gramas para um centígrama de bacilos da tuberculose bovina. Não nos alongaremos em descrever novamente a forma como esses animais foram infectados, o resultado desse teste com esse método foi que 100% dos animais foram infectados. Quatro deles morreram nos primeiros doze dias, após uma única refeição. Os demais apresentaram grande perda de peso e a grande maioria faleceu ao final de 45 dias. Apenas um sobreviveu por mais tempo, vindo a óbito 71 depois. Em todos foram encontradas lesões tuberculosas (Calmette, Guérin & Breton, 1907).

Como os autores conseguiram tubercular todos os animais utilizados como cobaias, esse método foi considerado por eles como seguro e eficaz para causar infecção.

Até aquele momento, já era de conhecimento de Calmette que os animais poderiam ser vacinados pela ingestão de bacilos da tuberculose. O período de duração dessa imunidade era desconhecido, por isso Calmette e Guérin (1908a) elaboram alguns experimentos com o propósito de averiguar uma possível resistência decorridos um ano de uma refeição infectante.

Utilizaram bovinos que já haviam recebido previamente uma refeição de bacilos bovinos da tuberculose atenuados. Houve a introdução de bacilos virulentos diretamente na veia jugular, exatamente um ano após a última refeição infectante, o mesmo procedimento foi realizado com um grupo controle. Os dois animais do grupo controle contraíram tuberculose e a evolução da doença foi idêntica em ambos, com perda de peso, apetite e respiração rápida. Eles vieram a padecer e suas autópsias revelaram inúmeros tubérculos nos pulmões, todas as vísceras abdominais permaneceram saudáveis.

³⁴ Para rever esse método vide página 29.

Os bovinos previamente imunizados sentiram um período curto de desconforto, mas permaneceram aparentemente ilesos, evidenciando uma resistência aos bacilos virulentos mesmo após um ano da última refeição infectante (Calmette & Guérin, 1908a).

Ainda não era possível determinar com exatidão o tempo de duração da imunidade, porém, por meio desses experimentos acima citados, os pesquisadores perceberam que poderia ser possível conferir imunidade para um tempo relativamente longo (um ano). Calmette discutiu sobre essa questão, pois podemos pensar que para uma vacina o período de um ano não é longo, entretanto, para o período estudado esse tempo de duração de uma vacina era encontrado em outros tipos de vacina, como a para o antraz. O pesquisador não enxergava como um problema a necessidade de revacinação.

Até aquele momento, os pesquisadores tinham realizado outros experimentos, porém, foi necessário selecionar apenas alguns para detalhar, uma vez que em seus artigos eles trazem uma grande quantidade de experimentos e se tornaria inviável citar e explicar todos. A fim de determinar por quanto tempo os bacilos permaneciam no organismo após vacinação por injeções intravenosas de bacilos da tuberculose de origem bovina atenuados em bile bovina, Calmette e Guérin (1913a) realizaram alguns experimentos.

Oito novilhas com idade de nove meses e que não apresentaram reação à tuberculina receberam nas veias, com um mês de intervalo, culturas de bacilos bovinos da 33^o e 34^o passagem³⁵ pela bile. Trinta dias após a segunda inoculação, os animais, juntamente com um animal controle da mesma idade, receberam via intravenosa, bacilos bovinos da tuberculose. Nenhuma das oito novilhas vacinadas manifestou qualquer sintoma, permanecendo em perfeita saúde (Calmette & Guérin, 1913a).

Sete delas foram abatidas, respectivamente, um, dois, três, quatro, oito, doze e dezoito meses após o evento. Como resultados desses experimentos, puderam perceber que as novilhas vacinadas preservavam vivos e virulentos em suas

³⁵ Os bacilos eram cultivados em bile e conforme cresciam, alguns eram recolhidos e colocados em um novo meio de cultura, também de bile bovina. Cada procedimento desse representava uma passagem pela bile.

glândulas brônquicas os bacilos de teste até dezoito meses, sem que esses bacilos tenham mostrado sua presença no corpo dos animais.

Essa determinação do tempo em que os bacilos permaneciam no organismo dos animais foi importante, pois posteriormente os pesquisadores vão constatar que a proteção contra a tuberculose estava associada a uma simbiose com os bacilos atenuados em bile bovina. Portanto, era imprescindível saber por quanto eles permaneciam no organismo, pois representaria o momento em que seria necessário tomar outra dose da vacina.

Calmette (1919) discorre sobre as discussões da época em relação à eliminação de bacilos por meio do intestino. Essas discussões se mostraram como essenciais devido às condições de higiene do período, pois o esgoto era lançado a céu aberto sem tratamento algum. O pesquisador menciona que não havia sido feita relação com o canal biliar. Para ele, os bacilos encontrados no intestino poderiam ser decorrentes do papel excretor do fígado (Calmette, 1919).

Para elucidar sua teoria, Calmette (1919) injetou, na veia marginal da orelha de uma série de coelhos, bacilos da tuberculose de origem bovina. Cada animal foi sacrificado por meio de uma secção no pescoço sucessivamente depois de 24 horas, 48 horas, 3, 4, 5, 6 e 7 dias do procedimento.

Os corpos foram abertos imediatamente após o sacrifício, evitando-se cuidadosamente tocar na superfície do fígado. O conteúdo da vesícula biliar foi sugado por uma pipeta e centrifugado, o sedimento formado foi diluído em água salina e inoculado sob a pele da coxa de quatro porquinhos da índia para cada coelho. Aqueles que receberam a bile de coelhos sacrificados 24, 48 horas, 5 e 6 dias permaneceram ilesas, enquanto que a proporção de tuberculose foi de dois para quatro para aqueles que receberam a bile do 3º dia, um para quatro com a bile do 4º dia e três para quatro com a do 7º dia (Calmette, 1919). Ficava claro que os bacilos introduzidos na corrente sanguínea poderiam ser eliminados por meio da glândula hepática e descarregados com a bÍlis no intestino.

Experiência similar foi realizada em novilhas com fístula biliar permanente, com as quais se permitia realizar com uma pipeta, inoculações necessárias para teste. Uma das novilhas recebeu na veia jugular, bacilos da tuberculose de origem

bovina e todos os dias depois do procedimento foram recolhidos bile do animal e injetada em porquinhos da índia. Todos os porquinhos que receberam bile até o 19º dia da inoculação foram infectados. Levando-se em consideração a pequena quantidade de bile inserida em cada cobaia, deve-se concluir que o número de bacilos evacuados pelo tato biliar era considerável (Calmette, 1919), já que foram capazes de produzir a doença artificialmente.

A última série de experimentos que iremos detalhar é a relacionada à duração da vacina. Nesse mesmo capítulo já discorreremos sobre alguns experimentos relacionados a essa temática. Porém, houve a necessidade de se interromper esses experimentos devido à Primeira Guerra Mundial. Ainda assim foi possível para Calmette & Guérin (1920) obterem alguns resultados.

Os experimentos por eles realizados utilizaram dez novilhas com idades entre nove e dez meses. Quatro serviriam como grupo controle e o restante passou por ensaios de vacinação. Em novembro de 1912, as seis novilhas receberam uma injeção na veia jugular de vacina de bacilos da tuberculose bovina atenuados. No mesmo dia, todas, inclusive o grupo controle, foram colocadas em um celeiro especialmente equipado para promover a contaminação natural (vide figura 06), habitado por dois meses por cinco vacas adultas tuberculosas. O piso do celeiro foi inclinado, organizado de modo que as fezes das vacas tuberculosas atingissem uma calha em todo comprimento na linha das novilhas (Calmette & Guérin, 1920).

O número de vacas infectantes foi mantido sempre o mesmo durante os trinta e quatro meses de duração do experimento, dessa forma, eram repostas sempre que faleciam. Foi estabelecido que três das novilhas vacinadas receberiam uma segunda dose da vacina após um ano no celeiro e uma terceira vacinação seria feita em duas dessas novilhas após mais um ano no celeiro (Calmette & Guérin, 1920).

Dezoito meses após a coabitação infecciosa, seis novilhas vacinadas não reagem à tuberculina, enquanto que três animais controle estavam claramente infectados. À vaca controle que resistiu foi atribuída uma resistência individual a contaminação. Em 1915, uma das novilhas que recebeu três doses da vacina foi sacrificada e na autópsia não foi possível identificar qualquer lesão tuberculosa. Os experimentos continuaram até os primeiros dias de agosto de 1915, quando as

tropas alemãs exigiram uma declaração de todos os bovinos existentes no território. A fim de evitar essa declaração, os pesquisadores decidiram acabar com o experimento e realizaram o abate clandestino dos animais.

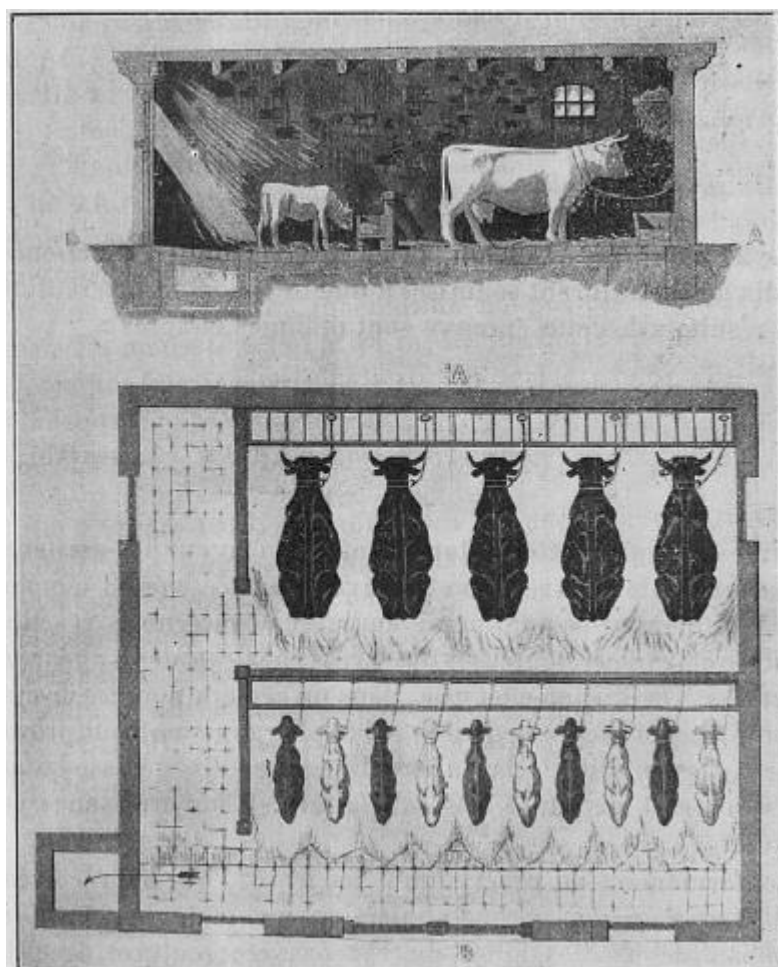


Figura 06: Esquema de disposição dos bovinos em experimento sobre contaminação e duração da vacina.

Estes foram um pequeno número de recortes metodológicos elencados para mostrar como Calmette e colaboradores conduziram alguns de seus experimentos. Conforme já mencionado, não estão presentes nesse capítulo todos os experimentos realizados pelos pesquisadores, em vista da grande extensão dos mesmos.

A escolha por descrever tais experimentos em detrimento de outros partiu da importância dada pela autora na descrição desses experimentos para o auxílio do entendimento do processo de uma forma mais ampla, uma vez que abordamos os experimentos sobre a origem da tuberculose pulmonar, grande divergência entre os cientistas do período; a obtenção de imunidade por refeições infectantes, que dará origem a ideia de que era possível imunizar com bacilos atenuados, embrião da vacina contra a tuberculose; o tempo de duração da imunidade e a questão da coabitação dos bacilos, fatos que estão intimamente interligados, uma vez que a proteção cessava quando não havia mais essa coabitação e os bacilos eram totalmente eliminados do organismo, fato essencial para o entendimento do funcionamento da vacina.

CAPÍTULO 03 – BASE METODOLÓGICA E EPISTEMOLÓGICA DA ANÁLISE HISTÓRICA

Segundo Martins (2005) a História da Ciência é descritiva, porém não se deve permanecer apenas no nível da descrição. Ela deve exceder esse nível, fornecendo explicações e proporcionando discussões acerca das contribuições do contexto científico.

Baseado nessa premissa, buscamos promover algumas explicações e discussões sobre as contribuições de Calmette, Guérin e seus colaboradores sobre o desenvolvimento do bacilo nomeado de BCG. Em vista da extensão do capítulo sobre o desenvolvimento da vacina, não foi possível explicar e discutir cada contribuição dos pesquisadores, conforme propõe Martins (2005). Essa extensão ocorreu por dois motivos, o primeiro deles é porque se tratou de um episódio histórico relativamente longo (28 anos), que abordou desde os estudos iniciais sobre a origem da tuberculose pulmonar até o desenvolvimento do BCG e sua utilização de fato como vacina. O segundo é porque o número de artigos publicados por Calmette em relação a esse episódio histórico não são poucos (mais de 200 na base de dados que utilizamos). Tivemos que selecionar e avaliar muitas informações, descartando outras.

Martins (2005) ainda coloca que um trabalho de História da Ciência deve possuir uma metodologia de pesquisa em História da Ciência, uma metodologia de pesquisa em epistemologia, conhecimento dos conceitos científicos que estão sendo abordados e conhecimento histórico do período estudado.

Pensamos que o conhecimento necessário acerca dos conceitos científicos trabalhados e estudados por Calmette já está contemplado pela formação inicial da autora. Já o conhecimento histórico específico do período estudado foi todo construído e elaborado no primeiro capítulo. O conhecimento histórico geral é proveniente dos estudos de História que a autora possuía até o momento de produção da dissertação, uma vez que a mesma já teve oportunidade de ministrar aulas dessa disciplina, mesmo não sendo sua formação inicial e também oriundo da

análise externalista que permitiu um conhecimento do contexto (histórico, social, econômico e científico) da época.

Em vista do exposto, pensamos ser importante detalhar apenas dois dos tópicos pontuados por Martins (2005). Ainda segundo a autora: “Um bom historiador da ciência se constrói a longo prazo” (Martins, 2005, p. 306), portanto temos a consciência de que por se tratar do nosso primeiro trabalho em História da Ciência, talvez ainda tenhamos que melhorar em alguns pontos nos trabalhos futuros.

3.1 Metodologia de pesquisa em História da Ciência

A abordagem de pesquisa em História da Ciência utilizada se constituiu em um misto de duas outras abordagens, a internalista e a externalista.

A abordagem internalista é centrada na discussão dos fatores científicos, sendo uma abordagem conceitual (Martins, 2005).

A abordagem externalista, ao contrário da anterior, é uma abordagem não-conceitual, centrada nos fatores exteriores ao científico, como as influências sociais, políticas e econômicas (Martins, 2005).

As primeiras [abordagem internalista] seriam aquelas que abordariam a ciência de um ponto de vista exclusivamente epistemológico, comparando as teorias entre si, explorando sua consistência interna, desvendando a lógica da descoberta, interpretando o papel desempenhado pelos grandes nomes da ciência durante os episódios revolucionários em que estavam envolvidos. Por outro lado, as análises externalistas procurariam estudar o desenvolvimento da ciência tentando desvendar as influências sociais sobre ela, isto é, como as necessidades sociais de diferentes épocas poderiam afetar a temática e mesmo o conteúdo das teorias científicas que dominavam a cena nesses diferentes períodos históricos (Zanetic, 1989, p. 72).

Nosso estudo se pautou nas fontes primárias, que representam os trabalhos e publicações do próprio autor analisado. Dentro desses trabalhos o autor deixa transparecer questões não-conceituais do período, principalmente com relação ao contexto social, político e econômico do período. Essa transparência é pouco percebida em relação a aspectos individuais do autor, como crenças religiosas e

posicionamentos políticos. Há também um diálogo com pesquisadores do período, esse diálogo não se dá apenas com estudiosos que concordem com sua teoria, mas existe um diálogo constante com a contradição.

3.2 Metodologia de pesquisa em epistemologia

Utilizamos a filosofia da ciência de Popper como base epistemológica para análise histórica. O epistemólogo austríaco Karl Raimund Popper (1902 -1994), teve como um de seus principais projetos filosóficos a busca por um critério de demarcação para definir se uma teoria poderia ser considerada científica ou não, o que se desmembrou em profundas investigações acerca da natureza da ciência, seus métodos, seu desenvolvimento e sua diferenciação da pseudociência (Popper, 1980).

Inicialmente Popper não tinha a preocupação de avaliar a veracidade ou a verdade contida em uma teoria, uma vez que, em suas palavras ele “sabia muito bem que a ciência frequentemente comete erros, ao passo que a pseudociência pode encontrar acidentalmente a verdade” (Popper, 1980, p. 1).

Para conseguir então diferir a ciência da não-ciência, Popper não se ateve à relação entre o conteúdo da teoria ou postulado que se pretende passar por científico e a realidade sobre a qual este conhecimento se refere, mas sim à sua estrutura lógica/metodológica, mais especificamente sobre a possibilidade de ser falseado.

Popper coloca a ênfase de seu critério de cientificidade no processo de falseamento, pois rejeita a ideia inicial de um indutivismo ingênuo, aquele que afirma ser a ciência o produto de um “método científico” único, infalível, indutivo e empírico, ou seja que “a ciência se distingue da pseudociência - ou ‘metafísica’ - pelo uso do método empírico, essencialmente indutivo, que decorre da observação ou da experimentação. Mas essa resposta não me satisfazia” (Popper, 1980, p. 1). Segundo esta ideia, poderíamos considerar diversas pseudociências como teorias científicas válidas, como, por exemplo, a astrologia, que possui um vasto corpo de observações empíricas que sustentam suas afirmações.

O que Popper (1980) encontrou, entretanto, que diferenciava àquelas teorias científicas das que considerava não-científicas (ou programas metafísicos de pesquisa), era que todas aquelas que não se enquadrassem satisfatoriamente como ciência poderiam encontrar respostas para todos os problemas que lhe fossem propostos.

Percebi que meus amigos admiradores de Marx, Freud e Adler impressionavam-se com uma série de pontos comuns às três teorias, e sobretudo com sua aparente capacidade de explicação. Essas teorias pareciam poder explicar praticamente tudo em seus respectivos campos. O estudo de qualquer uma delas parecia ter o efeito de uma conversão ou revelação intelectual, abrindo os olhos para uma nova verdade, escondida dos ainda não iniciados. Uma vez abertos os olhos, podia-se ver exemplos confirmadores em toda parte: o mundo estava repleto de verificações da teoria. Qualquer coisa que acontecesse vinha confirmar isso. A verdade contida nessas teorias, portanto, parecia evidente; os descrentes eram nitidamente aqueles que não queriam vê-la: recusavam-se a isso para não entrar em conflito com seus interesses de classe ou por causa de repressões ainda não analisadas, que precisavam urgentemente de tratamento. [...] Não conseguia imaginar qualquer tipo de comportamento humano que ambas as teorias [da Psicanálise de Freud e da Psicologia Individual de Adler] fossem incapazes de explicar. Era precisamente esse fato - elas sempre serviam e eram sempre confirmadas - que constituía o mais forte argumento em seu favor. Comecei a perceber aos poucos que essa força aparente era, na verdade, uma fraqueza (Popper, 1980, p. 2-3).

Estas constatações contrastavam com o desenvolvimento de outras teorias observadas por Popper, como a teoria da relatividade de Einstein, que havia sido colocada à prova em 1919 por Arthur Eddington, e após testes empíricos foi corroborada pelas observações de Eddington.

Popper (1980) concluiu então que, é relativamente fácil se encontrar confirmações para uma dada teoria, e por isso as confirmações de uma teoria só têm o mérito de corroborar esta teoria se forem predições arriscadas, ou seja, advindas de observações e/ou testes que poderiam resultar em um resultado oposto, negativo, que viesse não a confirmar, mas a falsear/falsificar a teoria em questão. Assim, para que uma teoria científica possa ser considerada satisfatória ela precisa ser proibitiva, isto é, postular a não ocorrência de determinados fatos ou fenômenos,

para que se possa de fato utilizá-la para fazer previsões quanto a estes mesmos fenômenos e fatos, ou seja, “o critério para definir o status científico de uma teoria é sua capacidade de ser refutada ou testada” (Popper, 1980, p. 5).

Assim, enquanto Calmette contesta afirmações tomadas pela comunidade científica como verdadeiras, e procede para testá-las e busca refutá-las, este está realizando o mais genuíno processo científico de acordo com Popper, pois se coloca contrário aos possíveis dogmas que se colocam em meio ao conhecimento científico, tornando-o pseudociência. Podemos observar este processo quando Calmette se recusa a aceitar a premissa amplamente disseminada de que a origem da tuberculose pulmonar seria por meio de uma infecção no trato respiratório, ao que von Behring postula uma hipótese diferente, a da origem intestinal da tuberculose pulmonar, e que este busca averiguar por meio de testes empíricos rigorosos que se buscam falsear ambas as teorias, a de von Behring e a amplamente aceita.

Neste processo que Calmette utiliza para desenvolver suas teorias há também a essência do desenvolvimento científico proposto por Popper (1980), pois em sua busca por um critério de demarcação da cientificidade, Popper pôde evidenciar não somente o que distingue a ciência daquilo que não é ciência, mas também compreender como se dá o desenvolvimento do conhecimento científico, que ocorre pelo processo que este denominou de “conjecturas e refutações”.

Assim, diferentemente do que geralmente se postula, de que a ciência se desenvolve a partir de observações empíricas, que então são sistematizadas para se tornarem teorias (indutivismo), Popper propõe que no processo científico não se espera que as observações precedam as ideias e hipóteses dos pesquisadores, mas que estas sim é que precedem e orientam as observações e experimentações.

As teorias científicas não eram uma composição de observações mas sim invenções – conjecturas apresentadas ousadamente, para serem eliminadas no caso de não se ajustarem às observações (as quais raramente eram acidentais, sendo coligidas, de modo geral, com o propósito definido de testar uma teoria procurando, se possível, refutá-la). (Popper, 1980, p. 14).

Portanto, para Popper (1980) a ciência se desenvolvia por meio de proposições mais ou menos ousadas, as quais advinham da imaginação e

inventividade da mente humana, ou seja, seriam proposições não necessariamente lógicas ou baseadas em observações empíricas prévias, de tal modo que o próprio Popper (1980) considera que a mitologia pode ser fonte destas conjecturas, e que seriam posteriormente testadas empiricamente na tentativa ou possibilidade de serem falseadas, como em seu critério de demarcação, e sendo corroboradas após este teste arriscado (pois poderiam ser tomadas como falsas) ganhariam então um status científico.

CAPÍTULO 04 – REDE DE SOCIALIBIDADE DE ALBERT CALMETTE

Nesse capítulo, elencaremos alguns dos pesquisadores com quem Calmette teve contato durante o período histórico de desenvolvimento do BCG, seja por meio de envio de materiais, seja por meio de suas ideias ou por causa de trabalhos em conjunto, e como isso influenciou seu trabalho.

Para a construção da Rede de Sociabilidade propomos seguir uma relação lógico-histórica, uma vez que para Duarte (1987) apenas o conhecimento da história não é suficiente para solução dos problemas, especificamente nesse caso, para compreender sobre a natureza da Ciência.

Para Duarte (1987, p. 25)

compreender o desenvolvimento histórico do objeto estudado não significa conhecer toda a história factual que o antecede. Isso seria um grande desperdício de tempo e desvio de atenção para os fatos e questões não essenciais para o estudo do objeto em questão.

Assim, para construção da Rede de Sociabilidade, não se deve dar muita atenção a fatos e materiais de pouca importância, ou seja, é necessário captar a essência do processo histórico, captando suas etapas essenciais. O lógico deve ser utilizado para distinção dos elementos essenciais e não essenciais do desenvolvimento histórico (Duarte, 1987).

Dessa forma, elaborar e montar uma Rede de Sociabilidade tendo como referência uma sequência lógico-histórica se refere em entender que a estrutura lógica da natureza da ciência não deve ser desvinculada de sua história. A história de qualquer pesquisador não deve ficar presa e focada em situações de pouca importância, é necessário captar a essência do processo histórico, ou seja, suas partes essenciais. Porém, para se distinguir as partes essenciais é necessário levar em consideração a lógica do objeto estudado em seu estágio de pleno desenvolvimento, uma vez que analisando a lógica do objeto se permite compreender suas etapas de desenvolvimento, sendo possível selecionar o que é essencial do que é secundário.

A lógica da fase mais desenvolvida não revela em si mesmo as etapas do desenvolvimento do objeto, então, apesar do lógico refletir o histórico, ele não é transparente, uma vez que ao mesmo tempo em que o revela, o esconde. A sequência lógico-histórica trata durante o desenvolvimento histórico, além dos fatos essenciais para compreensão, os desvios, retrocessos e acidentes, evidenciando que a sequência de etapas não é aquela que na história do objeto poderia parecer a mais lógica.

Assim, para a construção de uma Rede de Sociabilidade baseada numa sequência lógico-histórica proposta por Duarte (1987) é necessário analisar a estrutura lógica do conteúdo a ser visto e utilizado, ou seja, a separação dos antecedentes históricos. Essa etapa foi realizada no primeiro capítulo, porém, como o episódio histórico escolhido é relativamente duradouro e o número de produções do pesquisador analisado é extenso, essa primeira etapa acabou ficando um pouco grande, mas não há uma determinação do tamanho que essa etapa necessita ter, podendo ser menor para facilitar e evitar provocar equívocos. Em vista disso, a Rede de Sociabilidade que construímos não aborda todo o período do episódio histórico estudado, apenas as relações sobre a origem da tuberculose pulmonar e os primeiros métodos de vacinação.

Esta pesquisa fez um recorte histórico do período analisado para a construção de uma Rede de Sociabilidade como exemplo, e por isso nosso trabalho deixa como possibilidade de novos estudos uma continuação para a elaboração de novas redes de sociabilidade para o restante do período analisado, além de outras redes de sociabilidade para outros períodos não trabalhados nesta dissertação, promovendo questões abertas para novas pesquisas e desenvolvimento do conhecimento acerca da história e natureza da ciência.

A segunda etapa propõe a seleção dos antecedentes históricos, ou seja, as etapas essenciais na evolução do conteúdo. Apenas relembremos que a seleção dos conteúdos selecionados deve levar em consideração a lógica do mesmo em sua fase mais desenvolvida. Então, como o objetivo dessa rede é proporcionar subsídios para que alunos possam entender conceitos atuais de imunologia, especificamente ao que concerne a vacina contra tuberculose, elencamos como ponto de partida os

conhecimentos atuais sobre a vacina e a forma como ela se dá nos dias de hoje, para seleção dos elementos essenciais.

Por fim, a elaboração da Rede de Sociabilidade pautada nessa sequência lógico-histórica do conteúdo. Pensamos que essa rede não necessariamente precise conter apenas pessoas com quem nosso sujeito de pesquisa entrou em contato, mas indo além, podendo abranger as concepções do período sobre a temática e que o influenciaram, por exemplo.

Elucidaremos a teoria posta acima com alguns exemplos sobre a tuberculose e o desenvolvimento da vacina contra a doença. Nos dias de hoje é aceito que a tuberculose afeta principalmente os pulmões, a chamada tuberculose pulmonar, e seu principal meio de contágio ocorre por meio do ar, pela respiração de bacilos presentes no ambiente ou na fala e na tosse daqueles que estão doentes. Assim, levando em consideração essa análise da estrutura lógica do conceito em seu estado, classificado como Duarte (1987) como o mais desenvolvido, a origem da tuberculose pulmonar estudada por Calmette se mostra como um elemento essencial para a elaboração de uma Rede de Sociabilidade baseada em uma sequência lógico-histórica. Também hoje a vacina contra a tuberculose é ministrada via intradérmica, mas nem sempre foi assim, então abordaremos também formas iniciais de vacinação.

Conforme já elucidamos, o médico francês Albert Calmette, juntamente com o veterinário, também francês, Camille Guérin, foram os responsáveis pelo desenvolvimento de uma cepa de bacilos que leva seus nomes (bacilo Calmette-Guérin), por meio de processos de atenuações e que podem ser usado como vacina contra a tuberculose. Entretanto, o desenvolvimento desse bacilo não se deu de forma isolada, antes das primeiras pesquisas sobre a temática, eles entraram em contato com as opiniões que circulavam no período sobre a origem da tuberculose pulmonar.

Nesse momento, suas pesquisas foram motivadas pela divergência entre os pesquisadores do período sobre essa questão. Trazemos dois deles aqui, Emil von Behring e Albet Fraenkel. Para o primeiro a origem da tuberculose de dava no trato digestivo e era resultado de uma infecção ocorrida na infância. Para o segundo, a

origem acontecia no trato respiratório. Dessa forma, os primeiros experimentos que realizaram foram para tentar esclarecer essa dúvida.

Von Behring teve ainda outro papel nesse momento, pois ele foi o responsável por enviar os bacilos da tuberculose de origem bovina aos pesquisadores, para que pudessem realizar seus primeiros experimentos.

Os experimentos realizados pelos pesquisadores mostrou que era possível infectar artificialmente com tuberculose via trato intestinal. Tal fato também já era conhecido anteriormente às pesquisas realizadas por Calmette e Guérin e com o qual os cientistas também tiveram contato. Tratava-se de um trabalho publicado pelo veterinário francês Jean-Baptiste Auguste Chauveau em 1869. Entretanto essa questão ainda promovia debates entre os pesquisadores do período, uma vez que não eram todos que concordavam com essa premissa.

Calmette e Guérin novamente entram em contato com pesquisas que tinham diferentes interpretações de seus resultados obtidos até o momento, como a do patologista alemão David Paul von Hanseman, que afirmava não existirem casos genuínos de infecção via trato intestinal. Novamente os pesquisadores foram levados a realizar novos experimentos, influenciados por esses debates.

Por meio desses novos experimentos, ambos concluíram que von Behring estaria certo em apenas uma das questões apontadas por ele, a de que a tuberculose pulmonar era de origem intestinal. Sua outra premissa foi refutada, uma vez que foi possível infectar animais adultos.

Apesar de Calmette e Guérin já terem mostrado a possibilidade de infecção via intestinal, a maioria das pesquisas do período apontava que a forma mais comum de infecção da tuberculose pulmonar era via trato respiratório. Essas pesquisas eram de George Cornet, Edmond Nocard e Hyppolyte Rossignol, Otto Lubarsch, Georg Eduard von Rindfleisch e Louis-Antoine Ranvier, por exemplo. Os pesquisadores entraram em contato com essas pesquisas e seus resultados, contrariando-os baseados em seus experimentos realizados até o momento, que mostravam que a formação de tubérculos nos pulmões ocorria por causa de uma infecção via trato digestivo. Ambos ainda dedicaram maior atenção aos trabalhos de Nocard e Rossignol, uma vez que eles admitiram não terem conseguido promover a

contaminação de animais via trato digestivo. Isso fato os levou a estudar os mecanismos de infecção da tuberculose pulmonar e as possibilidades de vacinação pela ingestão de bacilos atenuados.

Apesar do desenvolvimento do bacilo BCG ter se dado em parceria com Guérin, Calmette realizou publicações na área com outros pesquisadores. A exemplo podemos citar Breton, com quem realizou experimentos sobre infecção e vacinação via trato digestivo em animais de pequeno porte, porém utilizando técnicas já empregadas anteriormente em animais de grande porte, como os bovinos.

Após contato com os trabalhos de von Pirquet sobre o teste de pele para diagnóstico da tuberculose, Calmette é levado a realizar alguns experimentos com seres humanos, em parceria de seus dois alunos, Breton e Petit. Essa foi a primeira série de experimentos que o pesquisador realiza a serviço de uma clínica médica. Como os experimentos foram realizados nos olhos, eles ainda trabalharam com o oftalmologista Painblan, que seria o responsável por auxiliar na observação das lesões.

Essa parceria resultou na elaboração de um teste, chamado por Calmette de oftalmo-reação à tuberculina, o qual poderia determinar se os indivíduos haviam contraído a tuberculose ou não, sem que oferecesse risco à saúde dos pacientes e por meio de uma técnica considerada pelos mesmos como simples e de fácil aplicação, cujos resultados eram obtidos em poucas horas.

Novamente em contato com trabalhos de von Behring, dessa vez sobre vacinação, Calmette e Guérin se propuseram a testar o método criado pelo pesquisador. Os experimentos por eles realizados mostraram que esse método não era tão adequado, por produzir uma imunidade que pouco durava, e por trazer risco à saúde, pois não fornecia uma reabsorção total dos bacilos, os quais poderiam permanecer no organismo por um longo período em estado de vida latente.

Houve, portanto, uma comparação com o método de imunização que estava sendo utilizado até o momento, com outro que também circulava durante o período. Isso evidencia novamente que as pesquisas de Calmette e Guérin foram influenciadas pelas publicações de outros cientistas da época.

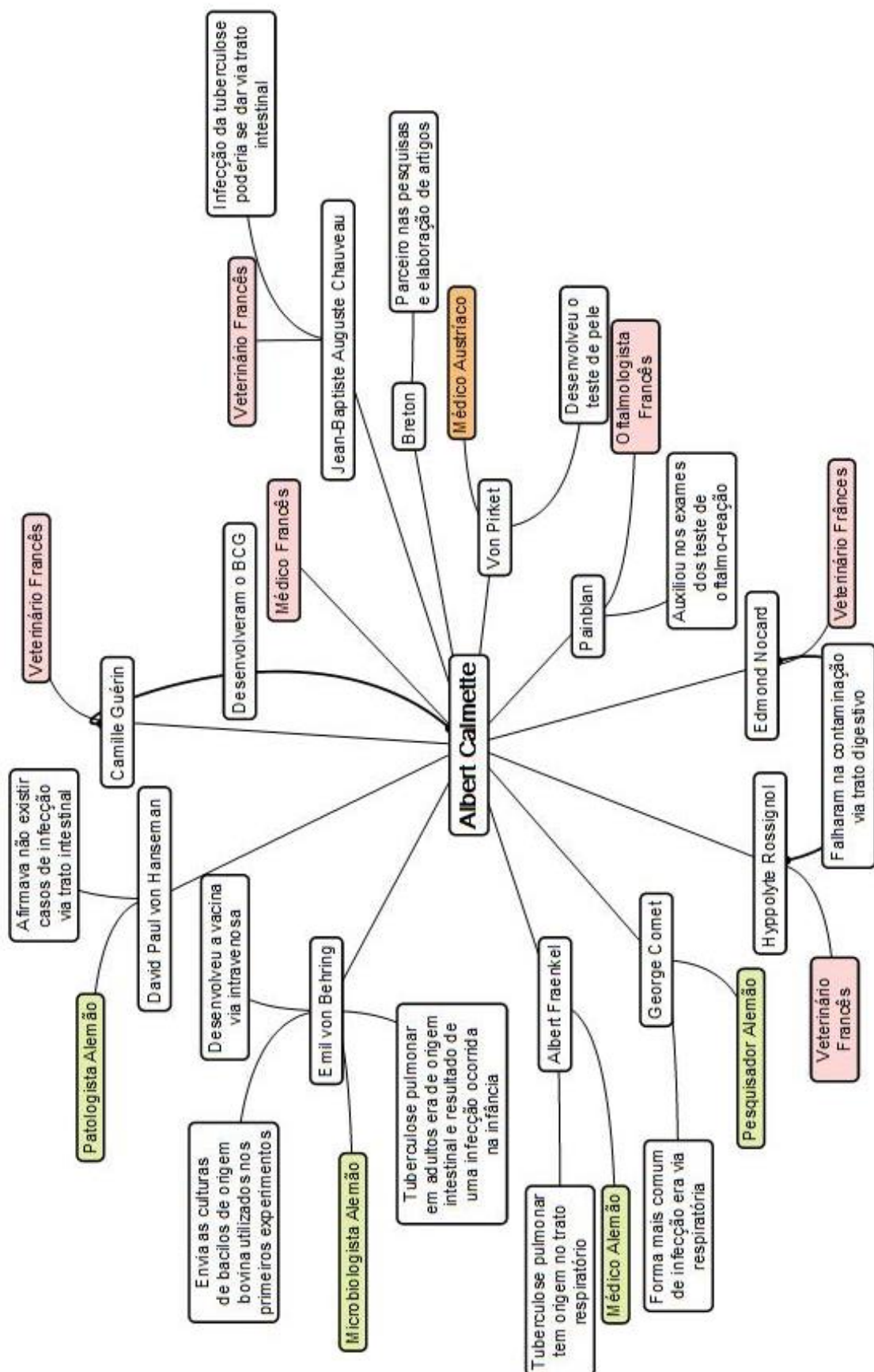


Figura 07: Rede de Sociabilidade sobre a origem da tuberculose pulmonar e os meios iniciais de vacinação.

O processo de investigação pautado na relação lógico-histórica se dá em espiral, de modo que ao empreender nossa análise, iniciamos por uma compreensão lógica do conteúdo científico – o desenvolvimento do bacilo BCG – compreendendo sua estrutura e lógica de criação e de uso como vacina contra a tuberculose (em referência à compreensão dos conceitos científicos que Martins (2005) sugere para sua metodologia de análise histórica), em seguida realiza-se, baseado nesta lógica, a seleção dos episódios e documentos históricos a serem analisados, e conforme se realiza o desenvolvimento e aprofundamento do estudo histórico a compreensão de sua lógica é ampliada e aperfeiçoada, e por sua vez, cada mudança na compreensão lógica guia o aprofundamento da compreensão histórica de forma dialética.

Este processo permite, ao analisar dialeticamente histórico pelo lógico e vice-versa, que se possa compreender quais os elementos verdadeiramente históricos e quais os meramente cronológicos, ou seja, diferenciar os elementos que contribuíram ou influenciaram de forma significativa o desenvolvimento do processo lógico e das formas finais do conhecimento científico produzido daqueles elementos corriqueiros e acidentais, que não influenciaram ou não são importantes para o desenvolvimento ou compreensão do saber produzido historicamente (Duarte, 1987). Este processo é o que nos permite diferenciar, baseado em nossos objetivos, aquilo que é essencial do que é secundário no processo de análise histórica.

CAPÍTULO 05 – O EPISÓDIO HISTÓRICO DE DESENVOLVIMENTO DA VACINA BCG E O ENSINO DE CIÊNCIAS

Gil-Pérez *et al.* (2001) afirmam que o ensino transmitindo uma imagem inadequada do que seria a construção do conhecimento é relativamente comum, inclusive no ensino superior. Essas visões se distanciam da forma como o conhecimento científico é construído e elaborado.

Em vista disso, as concepções dos estudantes, que serão futuros docentes, acabam se afastando da forma, como de fato, se dá a construção do conhecimento científico (Gil-Pérez *et al.*, 2001). Os autores ainda fazem uma reflexão sobre a importância dos docentes terem clareza sobre essa questão, uma vez que não possuírem essa compreensão não os impede de desempenharem um papel apenas de transmissores dos conhecimentos científicos, mas não haverá a promoção de discussões e debates sobre sua epistemologia.

No entanto, as limitações de uma educação científica centrada na mera transmissão de conhecimentos ... deram origem a investigações que evidenciaram as concepções epistemológicas inadequadas e mesmo incorretas como um dos principais obstáculos aos movimentos de renovação da Educação em Ciência/Didática das Ciências (Gil-Pérez *et al.*, 2001, p. 126).

Várias visões deformadas podem ser transmitidas no ensino de ciências sobre a forma como se compreende a natureza do trabalho científico. Gil-Pérez *et al.* (2001) coloca como possíveis visões deformadas da ciência a concepção empírico-individualista e atórica; a visão rígida; a visão aproblemática e ahistórica; a visão exclusivamente analítica; a visão acumulativa de crescimento linear; a visão individualista e elitista; e a visão neutra da ciência.

Não iremos abordar todas as visões deformadas do trabalho científico propostas por Gil-Pérez *et al.* (2001). Focaremos em cinco delas, propondo uma forma de utilização da História da Ciência, por meio da Rede de Sociabilidade de Calmette durante o desenvolvimento da vacina BCG, para buscar promover uma superação dessas visões.

A importância desse estudo reside na, como colocado por Gil-Peréz *et al.* (2011), educação e formação científica aparecerem como necessidades de desenvolvimento social e pessoal. E ao contrário do que se tem tido de expectativa sobre as contribuições da ciência para a humanidade, atualmente se tem um fracasso, pois os estudantes se recusam a aprender ciências e recusando também a própria ciência (Gil-Peréz *et al.*, 2011).

Esta preocupante distância entre as expectativas postas na contribuição da educação científica na formação de cidadãos conscientes das repercussões sociais da ciência - e susceptíveis de se incorporaram numa percentagem significativa, às suas tarefas – e a realidade de uma ampla recusa da ciência e da sua aprendizagem, tem terminado por dirigir a atenção para como se está levando a cabo essa educação científica (Gil-Peréz *et al.*, 2011, p. 36).

Os autores ainda colocam que esse desinteresse e rejeição se convertem em obstáculos à aprendizagem devido à transmissão de visões da natureza da ciência que se distanciam da forma como de fato são construídos os conhecimentos científicos.

Assim, mesmo que as visões deformadas de ciência não impeçam os professores de cumprirem o papel de transmissores dos conhecimentos científicos, Gil-Peréz *et al.* (2011) apontam que as limitações proporcionada por uma educação científica centrada apenas na transmissão de conteúdo são os principais obstáculos para movimentos de renovação da Educação Científica.

5.1 Concepção empírico-individualista e ateórica

É uma das concepções mais vistas na literatura. Essa concepção não leva em consideração que a observação e a experimentação são influenciadas por ideias anteriores, destacando um papel “neutro” das mesmas. Não é atribuída a essas ideias a orientação da investigação durante todo o processo. Como essa concepção coloca a experimentação e a observação como “neutras”, desconsiderando o papel

essencial das hipóteses prévias, podem ser reforçadas visões de ciência descontextualizada e exclusivamente empírica (Gil-Pérez *et al.*, 2001).

Esse tipo de visão sobre a natureza da Ciência afeta também os cientistas, por abordar estes como sempre conscientes dos métodos que utilizam em suas investigações. “Convém assinalar que esta ideia, que atribui a essência da atividade científica à experimentação, coincide com a de “descobrimento” científico, transmitida ... pelos meios de comunicação” (Gil-Peréz *et al.*, 2011, p. 44).

Por meio da rede de sociabilidade pode ser possível aos alunos perceberem com quais trabalhos anteriores e contemporâneos do período o pesquisador estudado entrou em contato e como esses trabalhos motivaram os seus próprios trabalhos, evidenciando que a observação e a experimentação não são neutras, mas sim são influenciadas pelo contexto histórico.

Na rede de sociabilidade de Albert Calmette durante o desenvolvimento da cepa de bacilos nomeados BCG é possível encontrar alguns exemplos. Logo no início de suas pesquisas sobre a tuberculose, que girava em torno de sua origem, Calmette e Guérin tiveram seus primeiros experimentos guiados pelas teses de von Behring. Ainda com relação a von Behring, este publica um trabalho sobre um método de vacinação por via intravenosa. Ao entrarem em contato com essas pesquisas, os pesquisadores direcionaram seus experimentos para testar a eficiência desse método.

Ao final da construção da Rede de Sociabilidade pode ser possível ter uma visão mais ampla de como as hipóteses, ideias, conhecimentos disponíveis no período influenciaram e orientaram todo o processo de construção do conhecimento científico, podendo fornecer uma visão mais realista de como de fato ocorre a construção desse conhecimento, portanto, da natureza da ciência.

5.2 Visão aproblemática e ahistórica

Por meio dessa visão, os conhecimentos já construídos são passados sem que sejam mostrados os problemas que lhes deram origem e quais as dificuldades

encontradas pelos cientistas (Gil-Pérez *et al.*, 2001). Dessa forma, as contradições, limitações tecnológicas e dificuldades culturais não são abordadas.

A apresentação de um conhecimento científico sem a abordagem dos problemas presentes em sua origem, não permite ao aluno apreender a dimensão de que esse conhecimento foi construído buscando responder a uma questão, a um problema. Sem essa noção, os conhecimentos científicos podem parecer aos olhos dos estudantes como construções arbitrárias (Gil-Pérez *et al.*, 2011).

Uma vez que todo conhecimento produzido é resposta a um problema, esse problema pode ter uma vinculação direta com as necessidades humanas do período, permitindo que se possa trabalhar com questões CTSA em sala de aula.

Por meio da Rede de Sociabilidade pode ser possível perceber e entrar em contato com todas essas questões dependendo da forma como ela for elaborada. A exemplo da tecnologia, no caso de Calmette, há um momento em que ele começa a fazer testes de pele, chamado por ele de oftalmo-reação à tuberculina, e ao mencionar o procedimento, diz que utilizava pelo de texugo, evidenciando a tecnologia no período. O mesmo pode ser observado com relação às fístulas. Dessa forma, a Rede de Sociabilidade pode abordar tais questões se os elementos essenciais selecionados propiciam tal aspecto, assim, anterior à elaboração da rede é necessário que se tenha bem definido os objetivos da elaboração da mesma.

Era possível também abordar na rede os dados publicados sobre a grande quantidade de óbitos provocados pela tuberculose no período em questão, sendo possível problematizar os motivos que levaram tantos pesquisadores do período a estudarem justamente a tuberculose e não qualquer outra doença, realçando que a busca por esse conhecimento científico visava solucionar as necessidades da população no período.

Assim como que essas necessidades não são globais, como colocado por Calmette quando ele menciona sobre a predominância da doença em lugares onde o comércio era constante, mas não em regiões onde a migração de pessoas era pequena, como nas regiões polares.

5.3 Visão acumulativa de crescimento linear

Essa concepção apresenta o conhecimento científico como um crescimento linear, em que os conhecimentos anteriores apenas foram sendo acumulados para se chegar ao conhecimento atual. Por meio dessa visão são ignoradas as crises e remodelações pelas quais passa o desenvolvimento científico (Gil-Pérez *et al.*, 2011).

É uma interpretação simplista da evolução dos conhecimentos científicos ao longo do tempo, como fruto de um conjunto de investigações realizadas em determinado campo. Esta é uma visão simplista a qual o ensino costuma contribuir, ao apresentar as teorias hoje aceitas sem mostrar o processo de seu estabelecimento, nem se referir às frequentes confrontações entre teorias rivais... (Gil-Pérez *et al.*, 2011, p. 49).

Assim sendo, de forma resumida, essa visão ignora as crises, os conflitos, as rupturas, as descontinuidades, para assumir a ciência como um acúmulo linear de conhecimentos em direção a um progresso contínuo.

Como a Rede de Sociabilidade não precisa abordar apenas os pesquisadores com quem nosso sujeito de estudo entrou em contato, mas pode abordar também ideias e experimentos do período, pode ser possível mostrar os movimentos de rupturas e continuidades do processo científico. Por meio dessa abordagem seria possível mostrar que os conhecimentos acerca da tuberculose e sua vacina não representaram uma construção linear, ou seja, os conhecimentos elaborados não foram utilizados como a construção de um muro, em que cada conhecimento representava um tijolo e esses tijolos eram postos uns sobre os outros. Ao contrário, o processo de construção do conhecimento passou por rupturas e não representou sempre um crescimento linear.

Como exemplo podemos mencionar a ideia aceita inicialmente por Calmette de que a tuberculose em adultos era resultado de uma infecção ocorrida na infância. Posteriormente a novos experimentos ele chegou à outra conclusão, mostrando que esse processo possui rupturas e não é de crescimento contínuo.

5.4 Visão individualista e elitista

Essa visão da natureza da Ciência trata os conhecimentos como obras de gênios isolados, sem levar em consideração o trabalho coletivo e a troca de conhecimentos e materiais entre equipes. “Em particular, deixa acreditar que os resultados obtidos, por um só cientista ou equipe podem bastar para verificar ou falsear uma hipótese ou inclusive toda uma teoria” (Gil-Pérez *et al.*, 2011, p. 42).

Por meio dessa abordagem, frequentemente o trabalho científico é posto como algo reservado às minorias que são especialmente dotados, o que pode transmitir aos alunos que a ciência está além do que eles podem realizar, e em especial para mulheres, de que a ciência é algo restrito a homens (Gil-Pérez *et al.*, 2011).

A imagem individualista e elitista do cientista traduz-se em iconografias que representam o homem de bata branca no seu inacessível laboratório, repleto de instrumentos estranhos (Gil-Pérez *et al.*, 2011, p. 42).

A Rede de Sociabilidade propõe justamente produzir uma rede com os trabalhos e pesquisadores com quem seu objeto de estudo teve contato, e como este foi influenciado por esses cientistas. Dessa forma, pode ser de fácil visualização para os alunos de que o conhecimento produzido não é produto de alguns poucos gênios que vivem isolados e sem contato com o que pensavam seus contemporâneos.

Na rede proposta por nós no capítulo anterior, essa questão é a mais evidente, tanto é que procuramos caracterizar os pesquisadores colocando seus nomes, nacionalidades e influências que tiveram para o desenvolvimento da vacina. Essas influências não se restringiram apenas às ideias e opiniões, mas também à troca de materiais entre eles, que de certa forma contribuíram para o processo.

Como não aparecem pesquisadoras mulheres nos trabalhos de Calmette, a rede de sociabilidade pode propiciar também a discussão das questões culturais e sociais da ciência do período estudado, a fim de entender o motivo dessa não aparição.

5.5 Visão neutra da ciência

Essa visão não aborda as complexas relações entre ciência, tecnologia, sociedade e ambiente (CTSA), expondo os cientistas como neutros, ou seja, acima do bem e do mal (Gil-Pérez *et al.*, 2001).

Essas questões podem ser abordadas na rede de sociabilidade, pois, conforme já mencionamos, a forma de construção e seleção dos elementos essenciais vai depender dos objetivos elencados previamente. Por meio dela podem ser abertos debates e discussões sobre as questões éticas envolvendo o desenvolvimento científico.

Um exemplo do processo de desenvolvimento da vacina contra a tuberculose tratado do capítulo um e que poderia ser utilizado em uma rede de sociabilidade para permitir a evocação de discussões e reflexões sobre essas questões é com relação ao teste de tuberculina para detectar se os animais estariam ou não com a doença. Conforme já elucidado anteriormente, inicialmente era atribuído ao resultado positivo ao teste de tuberculina a presença dos bacilos no organismo e consequentemente a presença da tuberculose pulmonar. Em vista disso, havia uma determinação do período para que todas as vacas destinadas a produção de leite fossem testadas e aquelas cujos resultados dessem positivas, deveriam ser sacrificadas. Para Calmette essa decisão teria consequências graves, pois diminuiria a produção de leite e consequentemente acabaria resultando no aumento do preço deste. Esse fato acabaria comprometendo a alimentação de crianças.

Esse fato acima mencionado poderia servir como um exemplo abordado na rede de sociabilidade para mostrar como a ciência e a tecnologia influenciam a sociedade e vice-versa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Albert Calmette foi um dos desenvolvedores do bacilo BCG, que pode ser utilizado como vacina contra a tuberculose. Conhecer o período histórico em que isso ocorreu pode auxiliar no entendimento na natureza da ciência. Em vista disso esperamos que o capítulo histórico possa iluminar a forma como o pesquisador fazia ciência e os processos pelos quais passou até chegar ao desenvolvimento do bacilo BCG.

Segundo Allchin (2000), a utilização da História da Ciência no contexto da sala de aula pode contribuir para a desmitificação de algumas ideias e visões deformadas sobre a mesma. Dentre essas visões deformadas podemos citar a concepção empírico-individualista e atórica, a visão aproblemática e ahistórica, a visão acumulativa de crescimento linear, a visão individualista e elitista e a visão neutra da ciência, propostas por Gil-Pérez *et al.* (2011).

Matthews (2015; 1989) coloca a importância do ensino das dimensões filosóficas, culturais e históricas da ciência, já que esta última tem sido considerada de grande importância para o entendimento das faces sociais e naturais do mundo. Klopfer (1969) também aponta a possibilidade de um melhor entendimento da ciência por estudantes por meio da história da ciência.

Em vista disso, propomos a utilização de uma Rede de Sociabilidade, uma vez que esta pode proporcionar o tratamento e abordagem de algumas visões deformadas da natureza da ciência, dependendo da forma e dos conteúdos abordados, além de que para que se possa elaborar a construção da rede é necessária um amplo conhecimento da dimensão histórica, que possibilitará um entendimento dos condicionantes sociais que influenciaram o contexto da pesquisa no período.

Por fim, esperamos que esse trabalho possa servir como material de estudo para futuros professores e a quem o tema interessar, uma vez que trás, em língua portuguesa, o período de desenvolvimento da vacina contra a tuberculose baseado nos artigos publicados por um de seus desenvolvedores, Albert Calmette, sendo

acessível, portanto, a todos os docentes brasileiros e também a quem a língua original dos artigos possa ser dificultada e de difícil acesso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLCHIN, D. How not to teach historical cases in Science. **Journal of College Teaching**, ProQuest Central, v. 30, n. 1, p. 33, 2000.

BORGES, V.; SANTOS, I. G. dos; SOARES, R. de S.; CARMO, K. V. do. O uso da História e Filosofia da Ciência no ensino de Ciências a partir de transposição de artigos publicados na última década no ENPEC e Revista ABFHiB. In: **Encontro de História e Filosofia da Biologia**, 2012.

CALMETTE, A. Etude expérimentale du venin de Naja Tripudians ou Cobra Capel et exposé d'une méthode de neutralisation de ce venin dans l'organisme. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. VI, n. 3, p. 160-183. 1892.

_____. Sur le venin des serpentes et sur l'emploi de sérum antivenimeux dans la thérapeutique des morsures venimeuses chez l'homme et chez les animaux. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XI, n. 3, p. 214-237, 1897.

_____. Sur un nouveau procédé de diagnostic de la tuberculose par l'ophtalmo-réaction à la tuberculine. In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CXLIV, p. 1324-1327, 1907.

_____. Diagnostic précoce de la tuberculose. Son importance pour l'efficacité du traitement de cette maladie (rapport, discussion et alloction). **77th Annual Meeting of British**. Medical Association, *British medical journal*, v.II, p. 328, 1909a.

_____. Diagnostic précoce de la tuberculose. Son importance pour l'efficacité du traitement de cette maladie (rapport, discussion et alloction). **38e session de l'Association française pour l'avancement des sciences**, Lille, p. 929, 1909b.

_____. L'hérédo-prédisposition tuberculeuse et le terrain tuberculisable. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXIV, p. 771-777, 1910.

_____. Les tuberculoses animales et leur rôle dans la contamination de l'homme. **Revue scientifique**, n. 90, p. 516-519, 1912a.

_____. Enquête sur l'épidémiologie de la tuberculose dans les colonies françaises. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXVI, p. 497-514, 1912b.

_____. Sur l'excrétion des bacilles tuberculeux par l'intestin et les voies biliaires. . In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXIII, P. 60-67, 1919.

_____. Faut-il sacrifier les vaches laitières qui réagissent à la tuberculine? **Revue d'hygiène**, v. XLIV, 401-407, 1922.

_____. Sur la vaccination B.C.G. par voie buccale chez les adolescents et les adultes non allergiques. Intérêt que présente cette méthode pour la prémunition du personnel sanitaire des établissements hospitaliers et des étudiants en médecine. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. L, p. 289-298, 1933.

CALMETTE, A.; BOQUET, A.; NÈGRE, L. Contribution à l'étude du bacille tuberculeux bilié. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXV, p. 561-570, 1921.

_____. Essais de vaccination contre l'infection tuberculeuse par voie buccale chez les petits animaux de laboratoire. . In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXVIII, p. 309-404, 1924.

CALMETTE, A.; BRETON, M.; MASSOL, L. Milieux synthétiques pour le bacille tuberculeux. In: **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, v. LXVII, p. 580-583, 1909.

CALMETTE, A.; BRETON, M.; PETIT, G. Influence de la tuberculine sur la phagocytose in vivo de bacille tuberculeux. In: **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, v. LXIII, p, 324-326, 1907.

CALMETTE, A.; GRYSEK. V. Démonstration expérimentale de l'existence d'un stade lymphatique généralisé, précédant les localisations, dans l'infection tuberculeuse. . In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CLVII, p. 981-983, 1913.

CALMETTE, A.; GUÉRIN, C. Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire (1er mémoire). In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XIX, p. 601-618, 1905.

_____. Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire (2eme mémoire). In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XX, p. 353-363, 1906a.

_____. Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire (3eme mémoire). In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XX, p. 609-624, 1906b.

_____. Origine intestinale des adénopathies trachéo-bronchiques tuberculeuses. In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CXLII, p. 1136-1139, 1906c.

_____. Contribution à l'étude de la vaccination des bóvidés contre la tuberculose par les voies digestives. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXI, p. 525-532, 1907.

_____.Nouvelle contribution à l'étude de la vaccination des bovidés contre la tuberculose. . In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXII, p. 689-703, 1908a.

_____. Sur la valeur spécifique de l'ophtolmo-diagnostic par la tuberculine. In: **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, v. LXIV, p. 889-891, 1908b.

_____. Sur quelques propriétés du bacille tuberculeux cultivé sur la bile. In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CXLVII, p. 1456-1459, 1908c.

_____. Sur la résorption des bacilles tuberculeux chez les bovidés à la suite de l'injection des mélanges de sérums d'animaux hyperimmunisés et de bacilles cultivés

en série sur bile de boeuf. In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CLI, p. 32-35, 1910.

_____. Recherches expérimentales sur la défense de l'organisme contre l'infection tuberculeuse (sérothérapie-immunité). In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXV, p. 625-641, 1911a.

_____. Note à propos du mémoire de M. Chaussé. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXV, p. 642-646, 1911b.

_____. Nouvelles recherches expérimentales sur la vaccination des bovidés contre la tuberculose et sur le sort des bacilles tuberculeux dans l'organisme des vaccinés. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXVII, P. 162-169, 1913a.

_____. Nouvelle contribution à l'étude de la pathogénie de l'infection tuberculeuse. In: **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. CLVI, p. 34-37, 1913b.

_____. Nouvelles recherches expérimentales sur la vaccination des bovidés contre la tuberculose. . In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXIV, p. 553-560, 1920.

_____. Vaccination des bovidés contre la tuberculose et méthode nouvelle de prophylaxie de la tuberculose bovine. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXVIII, p. 371-398, 1924.

CALMETTE, A.; GUÉRIN, C.; BRETON, M. Contribution à l'étude de la tuberculose expérimentale du cobaye. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXI, p. 401-416, 1907.

CALMETTE, A.; GUÉRIN, C.; WEIL-HALLÉ, B.; NÈGRE, L.; BOQUET, A.; WILBERT; TURPIN. Essai de prémunition par le B.C.G. contre l'infection

tuberculeuse de l'homme et des animaux (deuxième note). **Presse médicale**, v. 49, p. 825-826, 1925.

CALMETTE, A.; GUÉRIN, C.; WEIL-HALLÉ, V.; BOQUET, A.; NÈGRE, L.; WILBERT; LÉGER, M.; TURPIN. Essais d'immunisation contre l'infection tuberculeuse. **Revue de la tuberculose**, v. V, 481-491, 1924.

CALMETTE, A.; MASSOL, L. Sur la préparation des antigènes tuberculeux, In: **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, v. LXXI, p. 341-344, 1911.

_____. Recherches sur le bacille tuberculeux de Ferran. In: **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, v. LXXIV, p. 21-23, 1913.

CALMETTE, A.; NÈGRE, L.; BOQUET, A. Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. XXXVI, p. 625-631, 1922.

CALMETTE, A.; SAENZ, A. Sur l'immunité para-spécifique conférée par le B.C.G. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. L, p. 433-445, 1933.

DUARTE, N. **A relação entre o lógico e o histórico no ensino da matemática elementar**. 1987. 185 f. Dissertação (Mestrado em Educação) – Programa de Pós-Graduação em Educação, Universidade de São Carlos, São Carlos, 1987.

GIL-PÉREZ, D. et. al. Superação das visões deformadas da ciência e da tecnologia: um requisito essencial para a renovação da educação científica In: CACHAPUZ, A.; GIL-PÉREZ, D.; CARVALHO, A. M. P.; PRAIA, J.; VILCHES, A. (org.). **A necessária Renovação do Ensino de Ciências**; 3ª ed. São Paulo: Cortez, 2011.

GIL-PÉREZ, D.; MONTOTO, I. F.; ALÍS, J. C.; CACHUAPUZ, A.; PRAIA, J. Para uma imagem não deformada do trabalho científico. **Ciência & Educação**, v.7, n.2, p.125-153, 2001.

HAWGOOD, B. J. Doctor Albert Calmette (1863-1933): fondateur de la sérothérapie antivenimeuse. In: **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 10, n. 2, p. 139-146, 1999.

_____. Doctor Albert Calmette 1863-1933: founder of antivenomous serotherapy and of antituberculous BCG vaccination. **Toxicon**, v. 37, n. 9, p. 1241-1258, 1999.

JENSEN, G. M. M.; CREVELÁRIO, E.; PRESTES, M. E. B. Traduções de fontes primárias da história da biologia: metas, requisitos e desafios. In: **Encontro de História e Filosofia da Biologia**, 2012.

KLOPFER, L. The teaching of Science and the history of Science. *Journal of research in science teaching*, v. 6, p. 87-95, 1969.

MATTHEWS, M. R. History, philosophy, and Science teaching: a brief review. *Synthese*, v. 80, n.1, p. 1-7, 1989.

_____. Science teaching: contribution of history and philosophy of Science. 20th anniversary revised and expanded edition, **Routledge**, New York, 2015.

MARTINS, L. A. P. História da Ciência: objetos, métodos e problemas. **Ciência & Educação**, v. 11, n. 2, p. 305-317, 2005.

MEGLHIORATTI, F. A.; BORTOLOZZI, J.; CALDEIRA, A. M. de A. História da Biologia: aproximações possíveis entre as categorias históricas e as concepções sobre ciência e evolução apresentadas pelos professores de biologia. In: CALDEIRA, A. M. de A. & CALUZI, J. J. (Orgs.). **Filosofia e História da Ciência: contribuições para o ensino de ciências**. Ribeirão Preto: Kayros, 2005, p. 11- 28.

POPPER, K. R. **Conjecturas e Refutações**. Brasília: Editora da UnB. 1980.

SAKULA, A. BCG: who were Calmette and Guerin? **Thorax**, v. 38, n. 11, p. 806-812, 1983.

SANTOS, C. S. dos; CALUZI, J. J. História da Ciência e Ensino de Ciências: a visão externalista. In: CALDEIRA, A. M. de A. & CALUZI, J. J. (Orgs.). **Filosofia e História da Ciência: contribuições para o ensino de ciências**. Ribeirão Preto: Kayros, 2005, p. 104 – 114.

SLONGO, I. I. P. Contribuições da História da Ciência para a formação inicial dos professores de Biologia. In: TEIXEIRA, P. M. M. (Org.). **Ensino de Ciências: pesquisas e reflexões**. Ribeirão Preto: Holos, 2006, p. 13-31.

ZANETIC, J. **Física também é cultura**. 1989. 160f. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 1989.