

Reacção nuclear de Feulgen nos espirochetas e nas bacterias

Pelos Drs. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ.

Em continuação ás experiencias que vinhamos effectuando a respeito da reacção de FEULGEN nos protozoarios, resolvemos verificar como ella se comportava em relação aos espirochetas.

Empregámos para esse fim os *Treponema duttoni* e *T. hispanicum* mantidos por passagem em camondongo na Secção de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz. O sangue do animal altamente infectado, distendido em laminulas, era fixado, ora pelo sublimado-alcool, ora pelos vapores de acido osmico. A hydrolyse era effectuada em solução normal de acido chlorhydrico a 60° durante 4 minutos, após passagem em agua distillada pelo tempo de um minuto. Depois, as laminulas eram lavadas e conservadas durante duas horas no reactivo de FEULGEN.

Ao exame microscopico, os espirochetas não se mostravam corados, apesar da reacção ter se processado conforme era facil de verificar pela coloração dos nucleos dos leucocyts.

O modo de se comportar dos espirochetas os aproxima ao das bacterias e por esse motivo fomos levados a estudar com mais detalhe a reacção em representantes desse ultimo grupo.

FEULGEN e ROSSENBECK estudando a reacção em diversos representantes das series animal e vegetal chegaram á conclusão que o nucleo dos *trypanosomas*, os *levedos* e as *bacterias* não se mostravam corados por esse methodo. Concluíram então que os sêres inferiores possuíam chromatina diversa da encontrada no nucleo de outros organismos, isto é, chromatina essa em cuja composição não entrava o acido thymo-nucleínico e sim um outro acido da mesma natureza (*Hefenucleinsäure*).

Para os *trypanosomas* e outros flagellados do mesmo grupo, BRESSLAU e SCREMIN demonstraram que, ao contrario do que pensavam FEULGEN e ROSSENBECK o nucleo e o blepharoplasto se coravam pela reacção nuclear. Esse resultado foi confirmado por VOIT, REICHENOW, JIROWECK e por nós mesmos. JIROWECK conseguiu tambem corar um granulo no interior dos levedos, demonstrando assim que esses sêres vivos possuem acido thymo-nucleínico na composição da sua chromatina.

Quanto ás bacterias, VOIT que estudou com detalhe a questão, diz que consideradas isoladamente ellas não se mostram coradas, mas nas partes espessas dos esfregaços, onde ha superposição de bacterias, observa-se nitida coloração violacea. Essa coloração não se apresenta com a mesma intensidade nos preparados que não soffreram hydrolyse.

VOIT interpreta esse facto considerando que as bacterias possuem como os demais seres vivos o acido thymo-nucleínico como parte constituinte da sua chromatina, a qual em pequena quantidade se encontra disseminada por todo o corpo da bacteria. Esse autor acha ser esse o motivo

pelo qual a bactéria se cora uniformemente e com uma intensidade tão pequena que não se torna apreciável quando se considera um indivíduo isoladamente. Nas partes da preparação em que existe superposição dos corpos bacterianos essa coloração se mostra então evidente.

Já tínhamos observado quando estudámos o modo de se comportar do núcleo e do aparelho parabasal de alguns protozoários para com a reacção de FEULGEN, que as bactérias existentes no material que serviu para os nossos estudos, não se coravam. Resolvemos então ensaiar a reacção em preparados feitos com cultura pura de algumas bactérias. A primeira que serviu para os nossos estudos foi o *Bacillus anthracis*. Empregámos como fixador vapores de ácido osmíco, fixando os preparados a humido. A coloração foi feita de acordo com a técnica acima descripta. Ao contrario do que era de esperar, observámos nitidamente no interior dos bacilos granulados corados em violeta intenso. Empregámos também como fixador o álcool absoluto, permanecendo então os preparados 48 horas nesse fixador afim de excluir a hypothese de serem esses granulados constituídos de *plasmal* e obtivemos resultados identicos aos já assignalados. Esses resultados foram obtidos com culturas recentes de 16 a 18 horas, em agar inclinado, empregando para sementeira cultura antiga na qual só existiam formas esporuladas. De outra maneira não se obtém os mesmos resultados, observando-se então, algumas vezes, raros elementos apresentando granulações. Nestes casos verifica-se nitidamente o facto observado por VOIT, isto é, coloração violeta das partes da preparação onde ha superposição de corpos bacterianos.

As granulações acima referidas apresentam-se ás vezes isoladas na parte media do corpo do bacillo. De regra observam-se em cada bactéria duas granulações dispostas em diplococcus, cujos elementos podem se apresentar mais ou menos afastados um do outro. Um outro aspecto que também pode ser observado é o de bastonete. Os esporos, quando existem, apresentam-se hyalinos, refrigentes e destituídos de qualquer coloração.

As granulações que observámos e descrevemos no presente trabalho se assemelham ás que PARK, WILLIAMS e KRUMWIEDE observaram na mesma bactéria, corando-se em vermelho pelo methodo de GIEMSA e por elles consideradas como constituídas de chromatina.

Do que verificámos pode-se concluir que o *Bacillus anthracis* em certa phase de sua evolução, apresenta chromatina condensada sob a forma de granulados ou bastonetes, chromatina essa em cuja composição entra o ácido thymo-nucleínico.

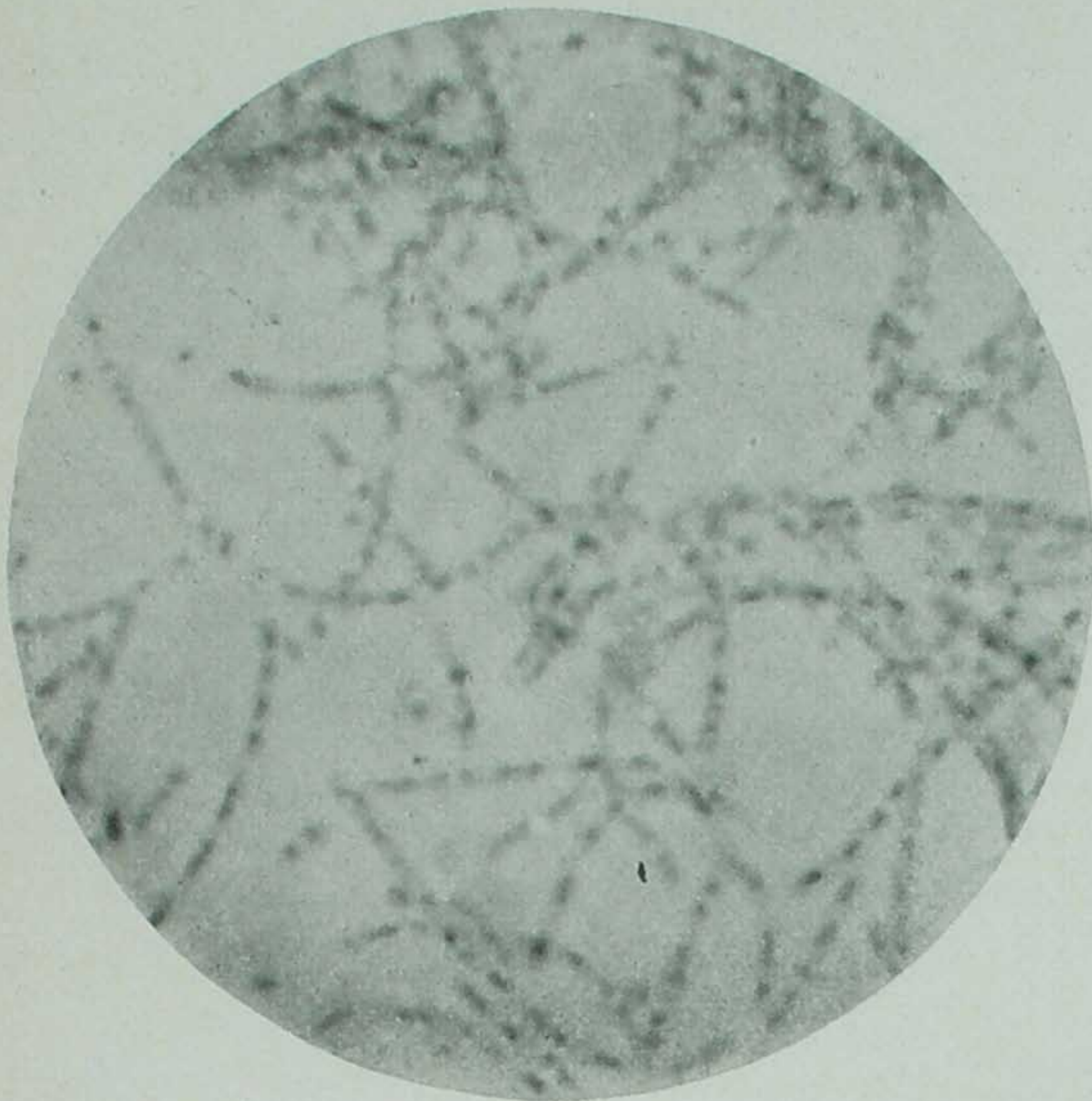


Fig. 1

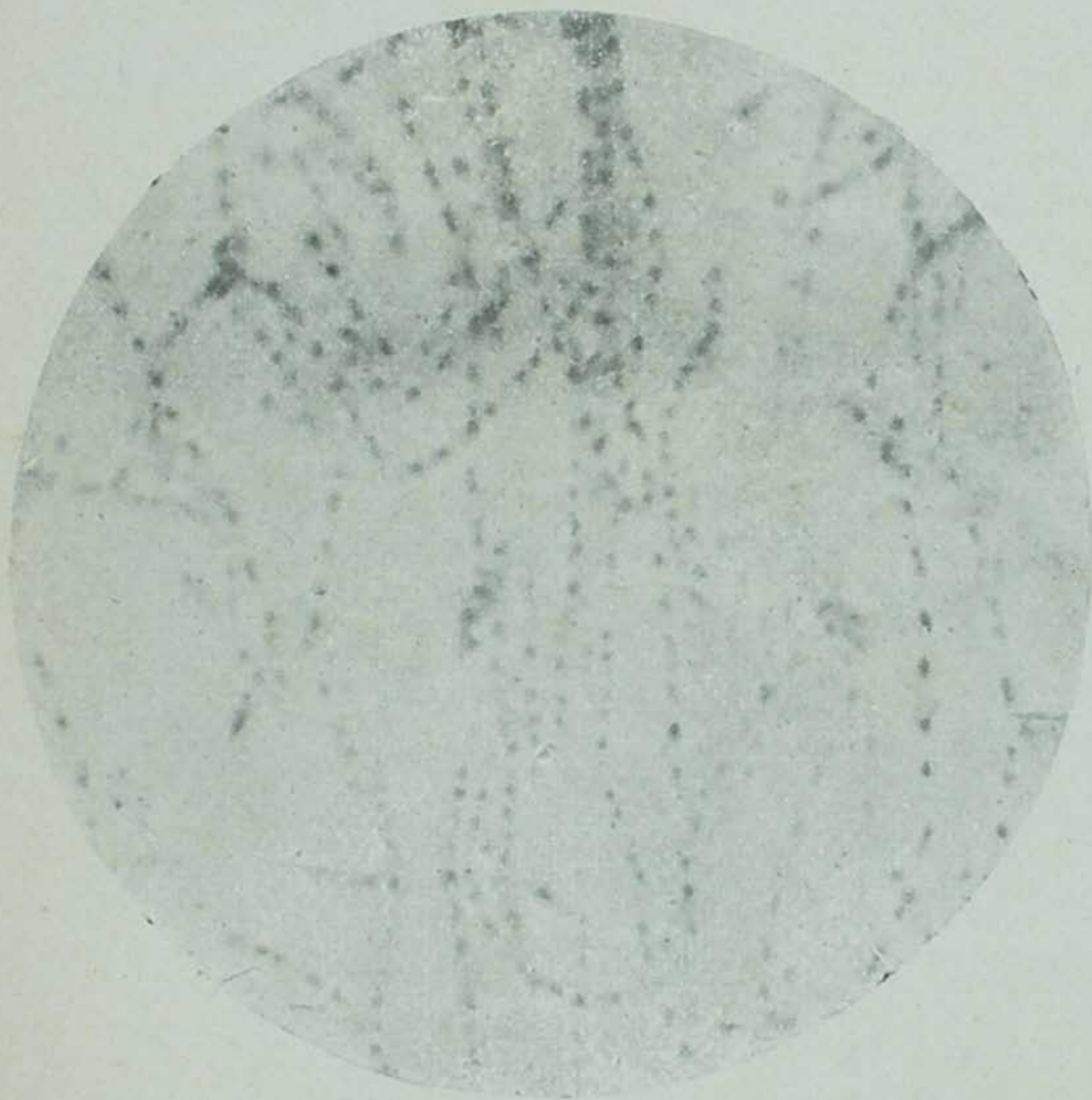


Fig. 2



Fig. 3

Fig. 1—Microphotographia de um preparado de *Bacillus anthracis* corado pelo methodo de FEULGEN. Os granulos de chromatina apresentam-se em escuro e os esporos como espaços claros arredondados

Fig. 2—Microphotographia apresentando aspecto analogo ao da figura 1, não mostrando, porém, os esporos.

Fig. 3—Desenho de alguns aspectos do *Bacillus anthracis* corados pelo methodo de FEULGEN, mostrando granulações no interior.

Fig. 1—Microphotographie d'une préparation de *Bacillus anthracis* colorée par la méthode de FEULGEN. Les granules de chromatine se présentent en couleur foncée, et les spores comme espaces clairs arrondis.

Fig. 2—Microphotographie présentant un aspect analogue à celui de la figure 1, moins, cependant, les spores.

Fig. 3—Croquis de quelques aspects du *Bacillus anthracis* colorés par la méthode de FEULGEN, montrant des granulations dans l'intérieur.