

# Sobre o encystamento do *BALANTIDIUM COLI*

(Nota preliminar)

Pelos Drs. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ.

A presente nota visa descrever, de maneira succinta, o processo de encystamento do *Balantidium coli* e os phenomenos que o acompanham.

Dentro em breve publicaremos um trabalho mais detalhado sobre o assumpto, com a respectiva documentação.

Admitte-se presentemente que o encystamento do *Balantidium coli* seja um phenomeno de simples defesa contra as condições desfavoraveis do meio em que vive, não soffrendo o protozoario, no interior do cysto, nenhuma alteração apparente da sua morphologia interna. Além disso BRUMPT admite um processo differente no qual se dá o encystamento dos dois conjugantes, sem dar, porém, maiores detalhes desse phenomeno.

Sem pretender negar as duas modalidades acima citadas de encystamento, no ciliado em questão, descreveremos aqui um outro processo que tivemos occasião de observar muito bem, na maioria de suas phases, quando estudavamos uma intensa infecção produzida por *Balantidium coli* em dois *Macacus rhesus* que tinham sido utilizados em nossos estudos sobre a febre amarella.

De passagem diremos aqui que grande numero dos *rhesus*, importados pelo nosso Instituto, apresentavam-se parasitados pelo *Balantidium coli* bem como por outros protozoarios como sejam: *Chilomastix*, *Trichomonas*, *Entamoebas* e por um *Octomitus* que é agora assignalado pela primeira vez parasitando animaes dessa especie. A esse *Octomitus*, demos o nome de *Octomitus pitheci* cuja descripção será dada em outra nota.

O primeiro material em que observámos formas de cystos de *Balantidium*, essas eram muito abundantes e uma vez coradas, grande numero dellas mostravam no seu interior dois nucleos arredondados, e portanto differentes dos cystos figurados nos trabalhos de HARTMANN, de DOBELL e O'CONNOR e considerados como cystos de resistencia.

Desde então, examinando diariamente fézes de dois dos nossos macacos que se mostravam intensamente parasitados por esse ciliado (*rhesus* ns. 5 e 6) conseguimos surprehender o inicio do processo de encystamento. Desde esse momento, procedemos á colheita de todas as dejecções logo após a sua emissão. Isso feito durante dias seguidos nos permittiu obter a seriação do material, sendo de notar que o espaço entre algumas dejecções, era, ás vezes, sómente de horas.

O estudo desse material é que nos permittiu esclarecer o processo de encystamento do *Balantidium*, na maioria de suas phases.

As nossas pesquisas forani feitas não só no material a fresco como em preparações fixadas e coradas. Como fixador utilizámos, com optimos resultados, o sublimado-alcool de SCHAUDINN, a frio, e tanto a fixação como a coloração eram feitas em *massa*. Como coloração utilizámos das



hematoxylinas de DELAFIELD e de HEIDENHAIN, do borax carmim e da reacção nucleal de FEULGEN. Este ultimo processo nos prestou relevantes serviços, corando-se os cystos perfeitamente bem por elle.

Durante o periodo de nossa observação, verificámos duas vezes o phenomeno de encystamento no *rhesus* n. 5. Quando isso se dava, as formas vegetativas que eram abundantes no material, diminuam grandemente de numero para deixarem predominar as formas cysticas (podendo-se contar num preparado de 20 a 30 cystos). Esse phenomeno, como pudemos observar, podia-se dar dentro de 24 horas. Após um ou dois dias de predominancia quasi que exclusiva de formas cysticas, essas eram substituidas por grande numero de formas vegetativas. Esse facto, nos fez suppôr que o desencystamento aqui, se dava no proprio animal, o que aliás veio a ser confirmado pelo estudo do material corado. Antes do encystamento o ciliado parece não soffrer nenhuma modificação visivel na sua extructura. De um modo geral o encystamento passa-se da seguinte formã: o ciliado não se mostra mais dotado de movimentos de progressão, ficando como que fixo num dado ponto, apresentando então intensos movimentos de rotação. Elle se arredonda, dando-se então a formação de uma membrana cystica que, a principio delgada, se mostra depois dotada de um duplo contorno. A estriação assim como o peristoma permanecem, podendo ser observados na maioria dos cystos. O movimento de rotação, que no inicio do encystamento era bastante intenso, vae diminuindo para ser substituido, num dado periodo, por simples correntes plasmaticas e essas mesmas desapparecem completamente nos cystos maduros. O ciliado nem sempre enche totalmente a membrana cystica, podendo-se notar entre elles, espaços claros. Pelo exame a fresco, o cysto apresenta a sua membrana refringente e no seu interior um aspecto granuloso e cheio de inclusões. Tratando-se pelo lugol a preparação, pôde-se por em evidencia no interior do cysto, uma grande massa unica ou granulos menores corando-se em pardo escuro ou mais claro e que parecem ser constituídos por glycogenio ou por substancia proxima.

*Estudo dos cystos e das formas de evolução nas preparações coradas.*— Logo no inicio do processo, o cysto apresenta-se arredondado, com uma membrana não apresentando ainda um duplo contorno, pelo menos em grande numero de exemplares. No seu interior nota-se um macronucleo ainda com o aspecto mais ou menos reniforme, deixando ver no interior d'elle, em alguns exemplares, um nitido micronucleo. Já aqui observa-se perfeitamente individualizada uma massa de substancia de reserva que pode variar em tamanho. Numa phase mais adiantada vamos encontrar um macronucleo com o aspecto de fuso. Por uma especie de estrangulamento desse fuso, dá-se a formação de dois novos nucleos, que tomam a forma arredondada. O micronucleo tanto nesta phase como na anterior, não pôde ser observado, parecendo que elle penetra no macronucleo, e funde-se com elle. Esta ultima forma binucleada representa o cysto maduro e é ella que predomina na phase final do encystamento. Cystos com 4 nucleos pôdem ser rarissimamente observados (encontrámos somente 4 vezes essa forma, em todo o nosso material). Pensamos que ella representa forma supernucleada, á semelhança do que ocorre com outros protozoarios (*Entamoeba*).

No material em que os cystos vão diminuindo de numero, appare-



cem abundantes formas vegetativas que, ao exame a fresco, se mostram achatadas, alongadas, com o plasma muito claro, de aspecto hyalino e completamente desprovidas de inclusões. Algumas dellas apresentam já inicio de divisão do plasma. Nos preparados corados, essas apresentam 2 nucleos redondos, com a chromatina disposta em granulos muito finos. Essas formas representam sem duvida, individuos que sahiram dos cystos, como demonstram: 1º a coincidência de seu apparecimento com a diminuição rapida do numero de cystos; 2º por possuirem como os cystos dois nucleos redondos e de estructura semelhante aos d'elles; 3º por não se encontrarem no material formas vegetativas intermediarias entre as de macronucleo, unico, reniforme e as binucleadas.

A essas formas daremos a denominação de formas *metacysticas*.

Os nucleos dessas formas, que se acham a principio distantes um do outro, se approximam, ficando então collocados na parte posterior do ciliado. Aqui começam a apparecer no interior delles, pequenos granulos (3 a 4) cercados de estreitos halos claros. Num estadio mais adiantado, observa-se dentro de cada nucleo um granulo unico, relativamente volumoso, redondo, cercado então por nitido halo claro, e que se cora em muitas formas, mais intensamente na sua periphèria pelo reactivo de FEULGEN. Esses granulos, sem duvida, devem representar o micronucleo de novo individualisado. Nessas formas não se encontram ainda inicio de divisão do plasma. Daqui por deante os dois nucleos se alongam tomando a forma de dois fuzos que se collocam parallelos e a chromatina no interior delles se dispoem em filamentos muito finos dirigidos longitudinalmente. Os micronucleos permanecem com o mesmo aspecto da phase anterior.

Inicia-se agora a divisão do plasma, acompanhada da emigração de um dos fuzos para a parte anterior do ciliado. Completada a divisão do plasma, fica cada individuo com um dos fuzos. Porém, antes da separação completa delles, dá-se a divisão do micronucleo, apresentando-se então cada fuço que representa o macronucleo em divisão, com 2 micronucleos. Depois dos ciliados estarem completamente separados, dá-se o estrangulamento do macronucleo na parte média, ficando cada uma das partes provenientes dessa divisão com um micronucleo. O estrangulamento e completa divisão do macronucleo são acompanhados de nova divisão do plasma, resultando então de cada cysto, quatro individuos que apresentam todos os caracteres das formas vegetativas do ciliado.

#### DISCUSSÃO.

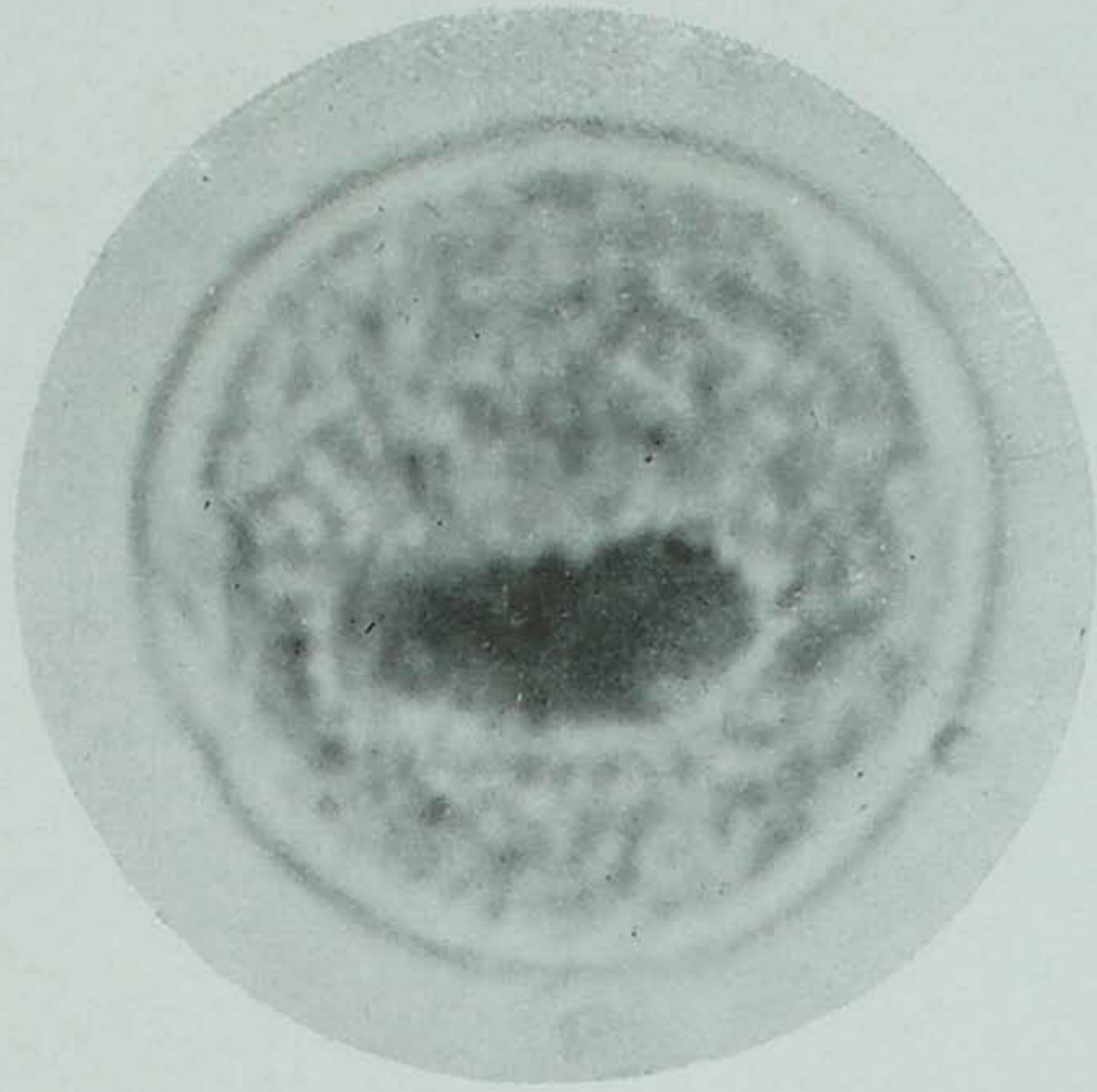
Segundo CALKINS os ciliados se encystam com trez fins: 1º para protecção contra as condições desfavoraveis do meio. Nesses cystos o protozoario não apresenta alterações em sua estructura interna. 2º para multiplicação, como acontece com *Colpoda*, *Tillina*, etc. 3º para reorganisação, como observou FERMOR, na *Stylonychia pustulata*.

A essas trez modalidades devemos juntar os cystos de conjugação admittidos por BRUMPT no *Balantidium coli*.

Procurando enquadrar em uma dessas formas o phenomeno que observámos, somos forçados a incluil-o entre os cystos de *reorganização*.

O phenomeno typico de reorganização nuclear é aquelle que se observa no *Paramecium* e que consiste na substituição completa do macronu-



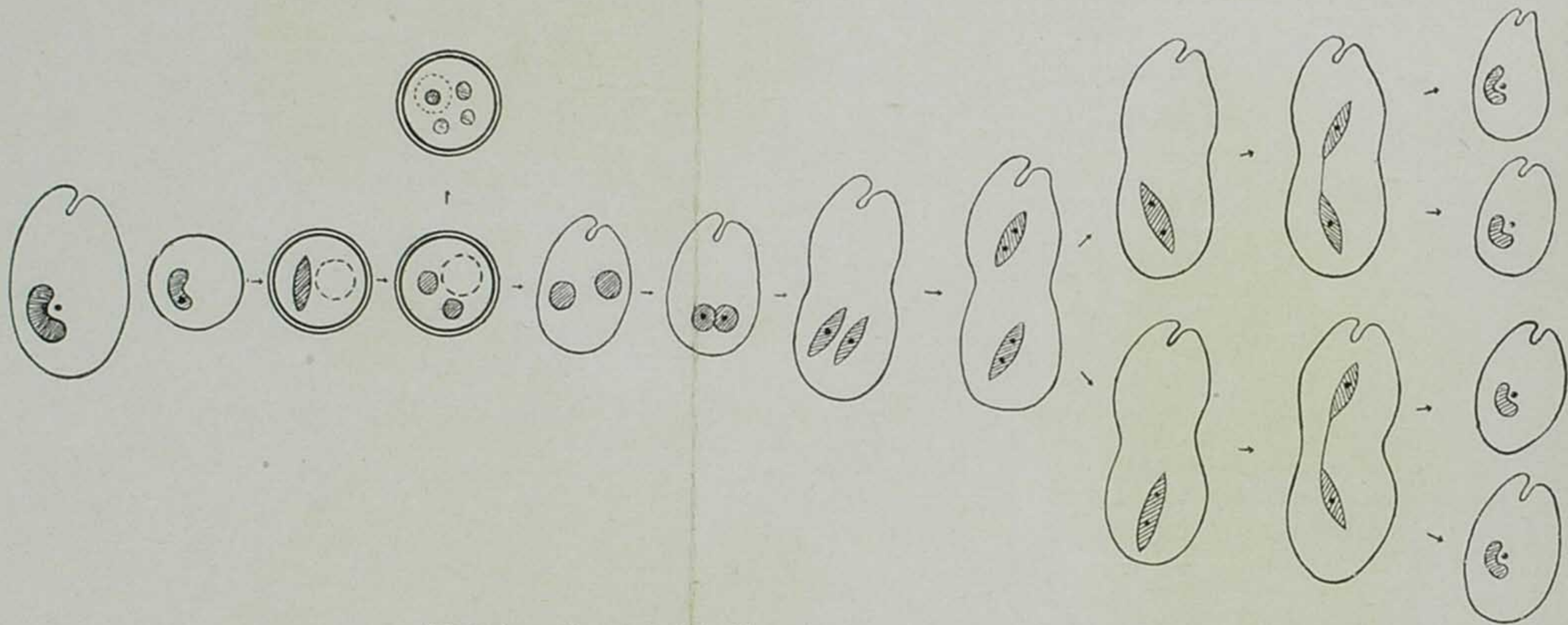


*Balantidium coli*. Cysto apresentando o nucleo alongado. (Microphotographia).  
*Balantidium coli*. Cyst showing alongated nucleus. (Photomicrograph).



*Balantidium coli*. Cysto maduro com dois nucleos. (Microphotographia).  
*Balantidium coli*. Ripe cyst with two nuclei. (Photomicrograph).





Schema do encistamento do *Balantidium coli* e de suas outras phases de evolução.  
 Scheme of encystment of the *Balantidium coli*, and of others phases of its evolution.



cleo que degenera, por um novo, formado á custa do micronucleo. Esse phenomeno é conhecido sob o nome de *endomyxis*. Elle pode coincidir com o processo de encystamento do protozoario, como acontece na *Stylonychia pustulata* (FERMOR) e no *Didinium nasutum* (CALKINS).

O processo por nós observado se afasta em alguns pontos do que ocorre nos casos que acabamos de citar. Assim, o macronucleo não degenera, antes, permanece e toma parte em todo o phenomeno. O micronucleo no inicio do encystamento, desaparece, para reaparecer em periodo posterior no interior do macronucleo, perfeitamente individualizado.

E' de crêr que o micronucleo penetre no macronucleo como acontece no *Ichthyophthirius*, rejuvenecendo-o ou pela substituição progressiva de sua chromatina, como NERESHEIMER e BUHCHKIEL admittem para o *Ichthyophthirius* ou levando ao macronucleo novo elemento de que elle carece, para o processo de multiplicação. Julgamos assim andar acertados, approximando o phenomeno que observámos da *endomyxis*, embora se afaste do processo classico por caracteres que lhe são peculiares.