

# Sobre um novo esporozoario parasito do tatú

## GLOBIDIUM TATUSI Cunha et Torres,

pelos

**Drs. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e C. MAGARINOS TORRES**

(do Instituto Oswaldo Cruz)

(Com a estampa 2.).

Em um tatú (*Tatus novemcinctus* L.) proveniente de Lassance (Estado de Minas Geraes) encontrou o Dr. L. TRAVASSOS pequenos kystos nas paredes do intestino delgado para os quaes chamou nossa attenção.

Estes apresentam-se sob a fórma de pequenas vesiculas de côr branca amarellada approximadamente do tamanho de uma cabeça de alfinete. Estas vesiculas rompem-se facilmente dando sahida a um liquido viscoso, turvo, de côr branca amarellada. Examinando ao microscopio o conteúdo das vesiculas, verifica-se a presença de corpos-alongados, em forma de bastonetes (formas em «*navette*» «esporozoitos») com as extremidades arredondadas, hyalinas e desprovidas de movimento.

Com esse material fizemos esfregaços que foram fixados a secco pelo al-

cool absoluto e corados pelo methodo de GIEMSA, outros fixados a humido pelo sublimado-alcool de SCHAUDINN e corados pela hematoxylina ferrea segundo HEIDENHAIN.

O material para estudo histologico foi fixado no liquido de ZENKER e incluído em parafina e os córtes corados pela hematoxylina-eosina, hematoxylina-VAN GIESON, methodo de MALLORY, para tecido conjunctivo (fuchsina-azul de anilina). Obtivemos córtes histologicos de dois kystos representando estadios diversos de desenvolvimento do parasito.

O kysto maior occupa toda a espessura das paredes do intestino. A camada submucosa é distendida e edematosa, a tunica muscular atrophiada (v. Fig. 7, Est. 2).

Ao nivel de sua maior largura, o intestino é desprovido de mucosa, sendo

o kysto separado da luz do intestino apenas por delgada camada formada unicamente pela submucosa. É assim, provável que a ruptura do kysto se faça para a luz do intestino.

Em torno do kysto maior não ha reacção inflammatoria, nem proliferação conjunctiva.

O kysto menor mede 800  $\mu$  de comprimento por 500 de largura. O kysto maior mede 2100  $\mu$  de comprimento por 500 de largura. O maior diametro em ambos os kystos é orientado parallelamente á superficie da mucosa.

O kysto menor acha-se situado, em parte, na submucosa, em parte na tunica muscular do intestino (v. Fig. 7, Est. 2).

A principal alteração ahi vista é a atrophia da tunica muscular, o que leva a crer que seja esta a séde primitiva do organismo.

A submucosa é muito pouco ou não é diminuida de espessura.

Não ha, em volta do kysto, proliferação conjunctiva nem alteração inflammatoria pronunciada; apenas existe edema não pronunciado e, em torno dos vasos da submucosa, infiltração cellula discreta (v. Fig. 7, Est. 2).

Ambos os kystos são providos de um envolucro mais ou menos nitido, que parece ser parte componente do parasito e distincto dos tecidos do hospedador.

A membrana ou envolucro do kysto não apresenta espessura uniforme. É estructura assaz fragil e a sua fina architectura pode ser bem apreciada apenas em um ou outro ponto em cada um dos córtes; em cada córte, isoladamente, acha-se visivelmente alterada, provavelmente por artificios de technica.

Nos pontos em que é bem conservada, mostra-se constituida por duas camadas de aspecto diverso:

a)— a *camada limitante interna* tem aspecto granuloso, sendo mais estreita e apresentando coloração rosea mais clara que a externa (methodo de MALLORY).

O detalhe mais interessante desta camada é a presença de cilios curtos, distinguidos com difficuldade, os quaes, aglutinados, occupam a sua face interna, fazendo saliencia na cavidade do kysto; esses cilios acham-se implantados em uma especie de «plateau», que se apresenta como uma linha ou bastonete corado intensamente em vermelho nos preparados pelo methodo de MALLORY (v. Fig. 8, Est. 2), e cuja direcção é parallelá á superficie do kysto. É esta uma das estructas mais frageis, sendo apenas constatada em um ou outro ponto de cada córte.

Para fóra desta estreita porção provida de cilios a camada limitante interna é uniformemente granulosa; occasionalmente encerra bastonetes corados em vermelho intenso (methodo de MALLORY), sobrepostos e cruzados em varias direcções (v. Fig. 8, Est. 2), lembrando o aspecto communmente apresentado pelo B. de KOCH em esfregaços de es-carro corados pelo methodo de ZIEHL; esse curioso amontoado de bastonetes fucsinophilos ás vezes se localisa, na camada limitante interna, logo abaixo do «plateau».

Inclusas nessa camada são occasionalmente encontradas as fórmulas em «navette» ou *esporozoitos* do *Globidium*. É difficil reconhecer se se trata de uma penetração activa ou de uma inclusão accidental; os elementos são raros e a sua distribuição muito irregular.

b)— a *camada limitante externa* é mais larga, mais intensamente corada em roseo (methodo de MALLORY) que a limitante interna. Em alguns pontos é separada do hospedador por um espaço claro ou fissura estreita; em geral, porém, é impossivel estabelecer linha de separação precisa entre esta camada e a submucosa (v. Fig. 7).

Incluidas nesta camada externa, no kysto maior, são encontradas as fórmulas alongadas («*esporozoitos*») existentes no seu interior; tambem são vistos vacuolos

redondos encerrando massas e, ás vezes, um bastonete pallidamente corado (preparação pela hematoxylina v. GIESON) e que podem ser identificados aos referidos esporozoitos em via de desintegração. As fendas ou fissuras ahí existentes guardam provavelmente, relação com os esporozoitos degenerados.

Esta membrana envoltoria do *Globidium* é considerada pela maioria dos auctores como fazendo parte ou sendo constituída por uma cellula de grandes dimensões. Nos nossos córtes não tivemos a felicidade de apanhar estruturas que pudessem ser identificadas a um nucleo e justificassem, assim, a natureza cellular da estrutura; acreditamos, porém, que esse insuccesso seja devido á escassez do material.

O conteúdo do kysto menor é constituído por uma massa de protoplasma formando um *syncitium* semeada de nucleos, ricos em chromatina e de fórma irregularmente arredondada. Os nucleos se dispõem em fileiras em torno das quaes o protoplasma se apresenta mais condensado (v. Fig. 1, Est. 2).

Com excepção de uma zona marginal estreita inteiramente desprovida de nucleos, estes são encontrados em toda a massa syncicial restante embora sua distribuição nesta não seja uniforme (v. Fig. 1, Est. 2). Na periphèria, na parte limítrophe á zona marginal acima referida, os nucleos são mais numerosos, dispostos de mane'ra mais compacta e o protoplasma se apresenta mais condensado; na parte central os nucleos são em menor numero e o protoplasma mais rarefeito embora conservando a mesma estrutura. A distincção entre as duas zonas da massa protoplasmica se faz gradualmente sem que se possa assignalar entre ellas um limite nitido.

O conteúdo do kysto maior é formado por numerosos corpos alongados, (formas em «navette», «esporozoitos») com as extremidades arredondadas e ás vezes ligeiramente recurvados. Em pre-

parados fixados a secco e corados pelo methodo de GIEMSA apresentam a maior parte destes corpos um nucleo situado em uma das extremidades e o protoplasma apresenta numerosas granulações que tem uma coloração semelhante á da chromatina (v. Fig. 2 e 3, Est. 2).

Algumas formas, porém, mais curtas, apresentam o nucleo central e o protoplasma inteiramente desprovido de granulações (v. Fig. 4, Est. 2). Entre os dous aspectos que descrevemos encontram-se fórmas intermediarias (v. Fig. 5, Est. 2).

As dimensões dos corpusculos (formas em «navette», «esporozoitos») são: comprimento 10-14  $\mu$ , largura 2-3  $\mu$ .

Em preparados fixados a humido e corados pela hematoxylina ferrea segundo HEIDENHAIN, o nucleo apresenta um caryosoma quasi sempre excentrico e grandes massas de chromatina que se dispõem junto á face interna da membrana nuclear. O plasma apresenta tambem aqui grande numero de granulos siderophilos.

Nos córtes do kysto maior observam-se as mesmas formas em «navette», ou «esporozoitos», as quaes aqui se dispõem em fileiras.

Além dessas fórmas já assignaladas nos esfregaços encontram-se massas globulosas, vacuolisadas, de dimensões variaveis («corpos residuas»):

Procurando interpretar as fórmas observadas, somos levados a considerar o kysto menor como uma forma de evolução do parasito anterior á observada no kysto maior.

A disposição dos nucleos em fileiras e a condensação do plasma em torno delles representa phase preparatoria para a divisão do *syncitium* e formação dos corpos alongados (formas em «navette», «esporozoitos»), cuja disposição no kysto maior em fileiras ou series seria assim facilmente explicada. A divisão aqui seria diferente da que se observa no *Globidium Gilruthi* o que explica a disposição

totalmente diferente dos corpos alongados ou fórmias em «navette», que neste ultimo parasito se dispõem radialmente ao contrario do que acontece com o «*Globidium besnoiti*» estudado por FRANCO e BORGES o qual, pela disposição dos bastonetes no interior do kysto, muito se approxima do que agora estudamos.

As massas globulosas, vacuolisadas que atraz assignalamos como presentes no conteúdo do kysto entre as fórmias em «navette», provavelmente representam «corpos residuaes» provenientes do plasma do syncitium após a sua divisão e individualisação dos corpos alongados.

Incluimos o parasito acima descripto no genero *Globidium* creado por FLESCH em 1883 para um parasito do intestino do cavallo. NÖLLER reúne em um genero unico sob a denominação de *Globidium* diversos parasitos descriptos por outros auctores como formando generos diversos. Assim elle incluye nesse genero os parasitos do estomago do carreiro descriptos por GILRUTH e denomina-

dos por CHATTON *Gastrocystis Gilruthi*, o *Sarcocystis mucosa* descripto por BLANCHARD no intestino do kangurú e o parasito encontrado na pelle dos bovinos por BESNOIT e ROBIN que MAROTEL chamou *Gastrocystis besnoiti* e para o qual FRANCO e BORGES, que estudaram minuciosamente este protozoario, criaram o novo genero *Besnoitia*.

O parasito aqui descripto se differencia das demais especies do genero pela fórmula e sobretudo pelas dimensões muito maiores dos corpos alongados (formas em «navette», «esporozoitos») além do hospedeiro diferente.

Pela disposição dos corpos no interior do kysto approxima-se a nossa especie do *Globidium besnoiti*. Não sendo porém conhecido o cyclo evolutivo desses parasitos, pensamos andar mais acertados conservando, como fez NÖLLER, todos esses parasitos em um genero unico embora certas particularidades de sua morphologia e evolução façam prever o futuro desmembramento desse genero.

## EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 2.

As figuras 1 e 7 foram desenhadas ao nível da platina, a figura 1 com obj. imm. hom. 1/12 e oc. 3, ZEISS, e a fig. 7 com obj. AA e oc. 3 de ZEISS.

As demais figuras foram desenhadas ao nível da mesa, sendo as figuras de 2 a 6, com obj. imm. homog. 1/12 e oc. comp. 12 de ZEISS, a figura 8 com obj. imm. hom. 1/12 e oc. 2 de ZEISS e a figura 9 com obj. imm. hom. 1/12 e oc. 4 de ZEISS.

Fig. 1—Conteúdo do kysto menor com grande aumento, observando-se a massa protoplasmática semeada de núcleos que constitui, separada em 2 zonas; *a* zona marginal, desprovida de núcleos; *b* zona central, com núcleos numerosos.

Fig. 2, 3—Corpos alongados do conteúdo do kysto maior corados pelo método de GIEMSA, com núcleo situado em uma extremidade e protoplasma com granulação.

Fig. 4—Forma pequena do conteúdo do mesmo kysto com núcleo central e protoplasma hialino.

Fig. 5—Forma intermedia entre a representada nas fig. 4 e as das figs. 2 e 3.

Fig. 6—Corpo alongado do conteúdo do kysto maior corado pelo método de HEIDENHAIN.

Fig. 7—*Globidium tatusi* (coloração pela Hematoxylina—v. GIEMSA). Kysto menor, situado em parte na submucosa, em parte na tunica muscular do intestino. Atrophia da tunica muscular (sede primitiva do organismo). Infiltração celular em torno dos vasos da submucosa; edema da submucosa.

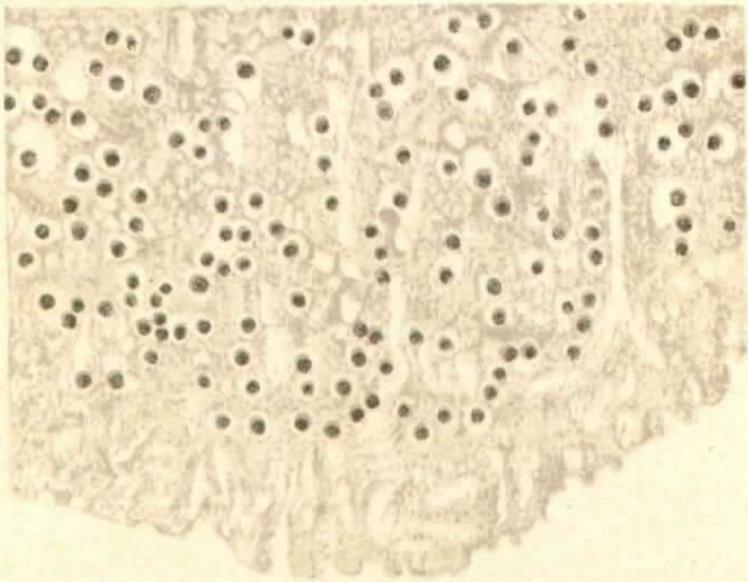
Fig. 8—Membrana ou envólucro do kysto (coloração pelo método de MALLORY-fuchsi-na, azul de anilina). A camada limitante interna, mostra a presença de cílios curtos, aglutinados, implantados em um «plateau».

Fig. 9—Conteúdo do kysto maior corado pela hematoxylina ferrea de HEIDENHAIN. Corpos alongados individualizados, dispostos em fileiras. Entre elles, massas globulosas residuaes.

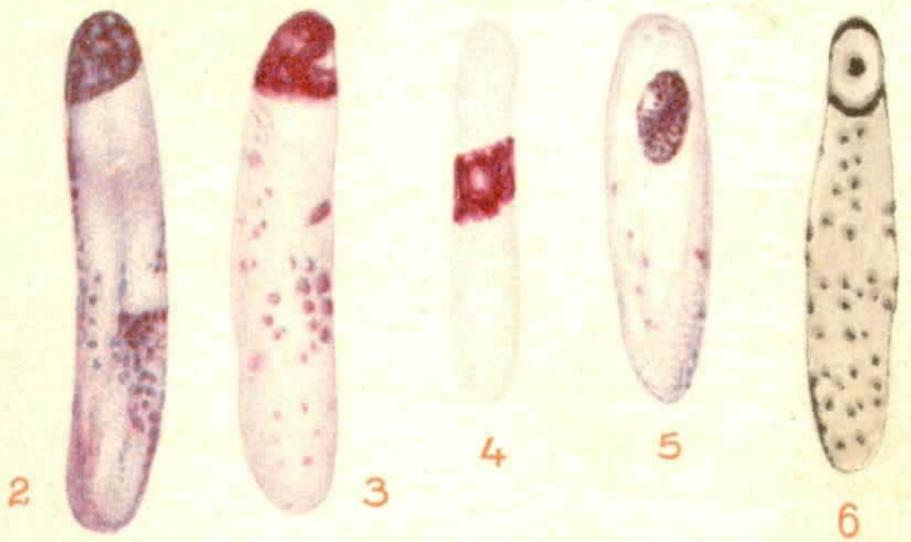
**BIBLIOGRAPHIA**

- BESNOIT, Ch. et ROBIN, V., 1912—Sarcosporidiose cutanée chez une vache. (Revue Vétérinaire, 37 année, pg. 649).
- BLANCHARD, R., 1885—(Bull. Soc. Zool. de France, Bd. 10, pg. 264).
- CHATTAN, E., 1910—Le kyste de Gilruth dans la muqueuse stomacale des Ovidés. (Archives de Zoologie Experimentale et Générale. Cinquième serie, t. V, Notes et Revue no 4, pg. 104).
- FLESCHE, M., 1883—Über ein Sporosoon beim Pferde (Zool. Anzeiger Bd. 6, pp. 396-397).
- FRANCO, E. E., BORGES, J., 1916—Sur la sarcosporidiose bovine (Arquivos Inst. Bac. Camara Pestana, vol. 4, pp. 269-289, 11 est).
- GILRUTH, J. A., 1910—Notes on a protozoan parasite found in the mucous membranes of the abomasus of the sheep. (Bull. Soc. Pathol. Exot., vol. 3, pp. 297-298).
- GILRUTH and BULL 1912—Enteritis associated with infection of the intestinal wall by cyst-forming protozoan (Neosporidia) occurring in certain native animals (Proced. Roy. Soc. of Victoria, vol. 24, New-series, pp. 482-450).
- NÖLLER, W., 1920—*Globidium* (Gastrocystis, Besnoitia) in Handbucht. Pathogenen Protozoen.





1



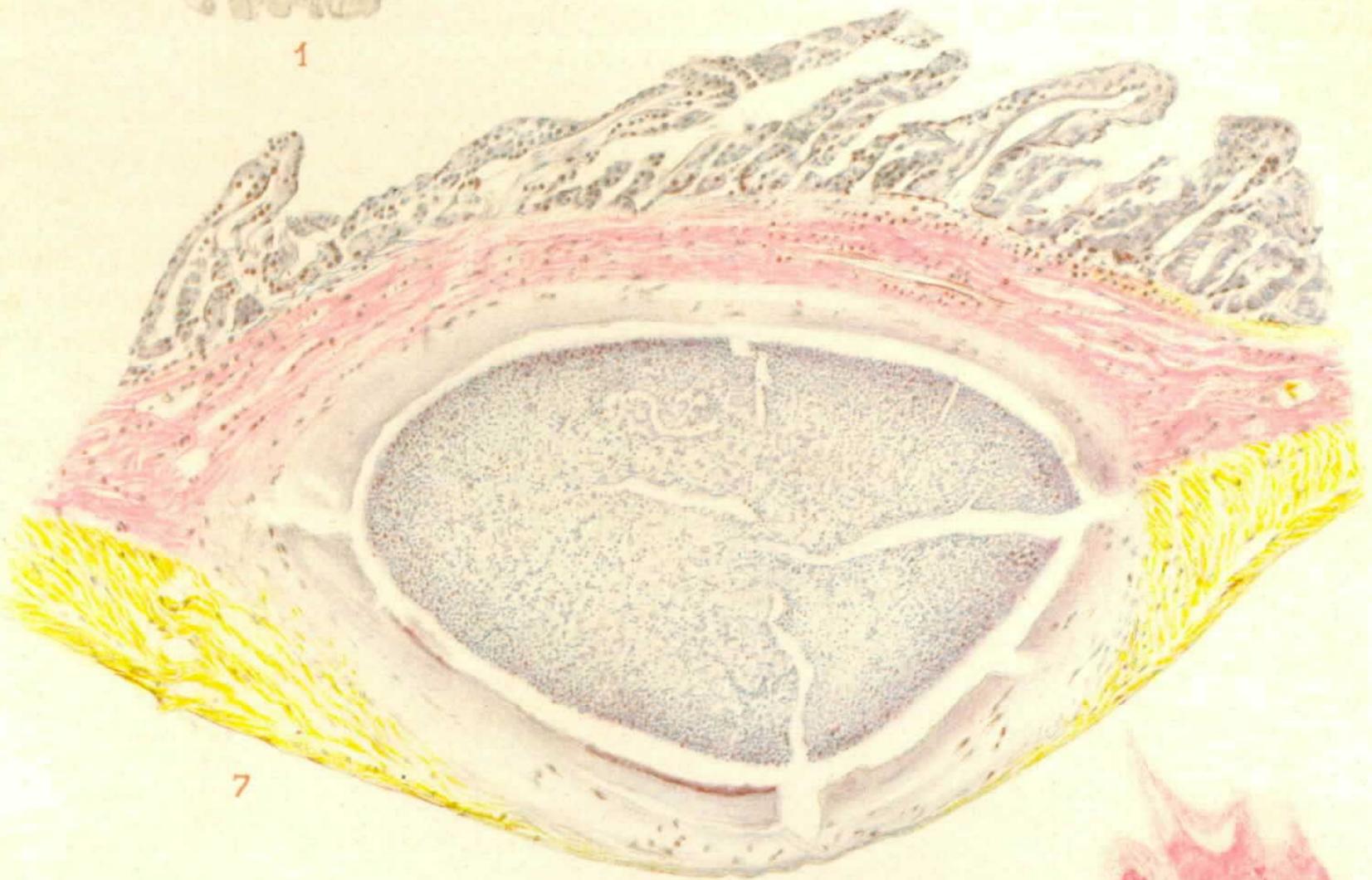
2

3

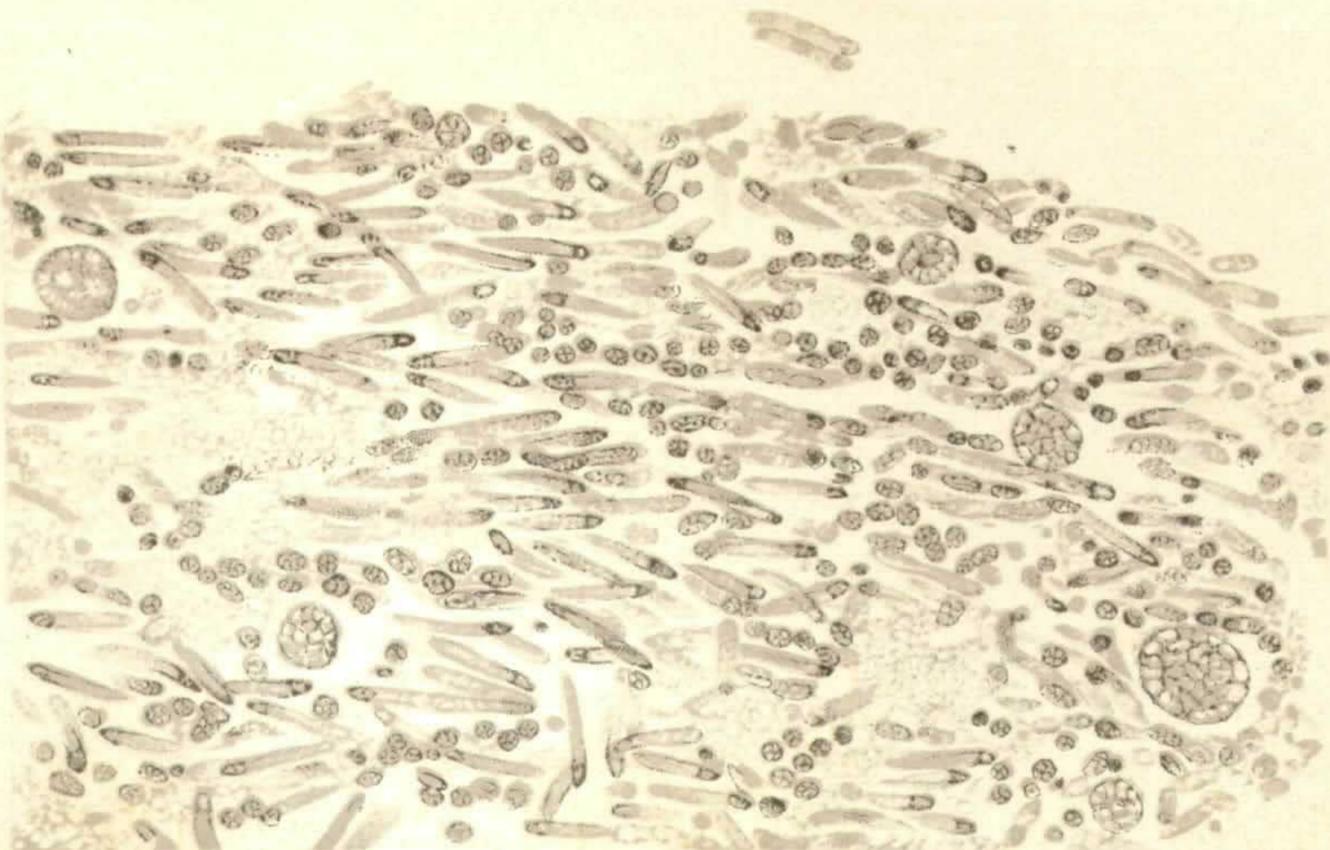
4

5

6



7



9



8