



AValiação PARASITOLÓGICA DE RATOS (*Rattus norvegicus*) E CAMUNDONGOS (*Mus musculus*) DO BIOTÉRIO DA UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA

MORAES, Bibiana Teló¹; DIAZ, Jorge Damian Stumpfs²; WOLKMER, Patrícia³; FAVARETTO, Bruna Peruzzo⁴; FERREIRA, Eduarda Pacheco Talleyrand¹.

Resumo: Resultados de pesquisas desenvolvidas com animais de laboratório podem ser influenciados pelas condições ambientais, proporcionadas durante as fases de reprodução e de crescimento, e por agentes infecciosos. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a presença de parasitas nas criações de ratos e camundongos do biotério da Universidade de Cruz Alta. Para isso, foram utilizados 34 animais de ambos os sexos, sendo 20 Camundongos (*Mus musculus*), 10 jovens (até 60 dias) e 10 adultos (a partir de 90 dias); e 14 Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) destes 4 jovens e 10 adultos. Após, foi realizada eutanásia para avaliação macroscópica dos órgãos e coleta de fezes do trato gastro intestinal para análise parasitológica. As amostras fecais foram processadas, através da Técnica de Centrífugo – Flutuação, para análise parasitológica. Nos animais avaliados, não foi observada a presença de ectoparasitas e lesões macroscópicas evidentes no fígado, rim e trato gastro intestinal. Dos animais avaliados somente três dos quatorze ratos Wistar adultos apresentaram ocorrência de oocistos de coccídeos não esporulados. Os outros grupos foram negativos para as amostras analisadas. Apesar da infecção comprovada, os animais mantiveram-se em boas condições de higiene. A maioria desses organismos são parasitos e/ou comensais de vertebrados, encontrados no trato digestivo do hospedeiro, muitas vezes podem estar associado à ingestão de invertebrados parasitados. Os animais apresentaram baixa ocorrência de infecção parasitária, o que assegura qualidade nos experimentos realizados.

Palavras- Chave: Parasitológico. Fezes. Coccídeos. Ratário.

INTRODUÇÃO

Os biotérios são instalações destinadas à produção e manutenção de animais para atender às necessidades dos programas de pesquisa e de ensino, propiciando qualidade nos estudos experimentais nas áreas da saúde, ciências biológicas e tecnológicas. O emprego de

¹ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta.
bibianatelo@hotmail.com

² Professor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta.
jorgestumpfsdiaz@hotmail.com

³ Professora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta.
pwolkmer@unicruz.edu.br

⁴ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta.



animais de experimentação tem sido essencial para o desenvolvimento de fármacos, produtos biológicos e técnicas de transplantes, assim como para o estudo de doenças do sistema nervoso, neoplasias, viroses, bacterioses e parasitoses.

Os roedores têm sido os mais utilizados pelos centros de pesquisa, sendo importantes para estudos científicos em diversas áreas, por possuírem características fisiológicas e genéticas semelhantes à dos humanos (HARKNESS; WAGNER, 1993). Os biotérios de classificação Convencional geralmente hospedam uma alta variedade de endoparasitas, ectoparasitas (BAKER, 2006) e agentes infecciosos, patogênicos ou oportunistas tais como vírus e bactérias, piolhos, ácaros entre tantos outros, que dependendo de sua patogenia, podem inviabilizar experimentos, causar a morte em animais, alterar o índice de reprodução, induzir parâmetros bioquímicos, hematológicos e histológicos errôneos e alterar os resultados experimentais (NICKLAS, 2002; MÄHLER, 2004).

Resultados de pesquisas desenvolvidas com animais de laboratório podem ser influenciados pelas condições ambientais, proporcionadas durante as fases de reprodução e de crescimento, e por agentes infecciosos (CLOUGH, 1982; PAKES *et al.*, 1984; HOMBERGER; THOMANN, 1994). Como consequência, resultados de pesquisa podem ser comprometidos quando agentes infecciosos estão presentes nas colônias.

Assim, para garantir a confiabilidade do experimento, devem ser usados animais criados e produzidos sob condições ideais e mantidos em um ambiente controlado, com conhecimento e acompanhamento dos padrões sanitários (ANDRADE, 2002). Por isso todo e qualquer animal que vier a ser utilizado como fim ou meio de uma investigação experimental, deverá possuir boa qualidade microbiológica e parasitária podendo dar garantias de que o experimento não irá terminar antes do fim por problemas sanitários.

O presente estudo teve como objetivo fazer um levantamento e avaliar a ocorrência de ectoparasitas e endoparasitas nos Ratos (*Rattus norvegicus*) e Camundongos (*Mus musculus*) do Biotério da Universidade de Cruz alta - UNICRUZ, sendo possível quantificar e qualificar a incidência desses parasitas nas colônias desses animais e ainda diagnosticar o status sanitário dos mesmos, recomendando-os ou não para a realização de pesquisas e fornecer suporte técnico-científico para a implantação de programas de controle de qualidade sanitária no local.



MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram utilizados Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) e Camundongos (*Mus musculus*) oriundos do Biotério convencional da Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ. Os animais foram criados em caixas próprias para esse exercício, sendo elas, caixas de polipropileno e com camas de maravalha, com condições controladas e originados das colônias implantadas no Biotério da UNICRUZ.

Foram utilizados 34 animais de ambos os sexos, sendo 20 Camundongos (*Mus musculus*), 10 jovens (até 60 dias) e 10 adultos (a partir de 90 dias); e 14 Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) destes 4 jovens e 10 adultos. Os animais foram retirados individualmente das caixas, identificados, pesados, levados para câmara anestésica, sendo utilizado aprofundamento anestésico com Isoflurano para realização da eutanásia. Todos os protocolos utilizados neste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade de Cruz Alta (CEUA/ UNICRUZ) e todos os procedimentos que envolveram o uso de animais seguiram os Princípios Éticos no Uso de Animais de Laboratório disponibilizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório.

Inicialmente os animais foram examinados quanto ao estado geral e presença de lesões de pele aparente. Em seguida, foi realizada avaliação de ectoparasitas através da utilização de lupa, onde foi examinada a pelagem dos animais visando à procura de parasitas de maior tamanho (piolhos) e microscopia ótica para ácaros menores (sarnas).

Figura 1. Lupa para examinar pelagem dos animais visando à procura de lesões de pele e parasitas de maior tamanho.



Após foi realizada necropsia dos animais, sendo avaliada possíveis lesões macroscópicas em órgãos (rins, fígado, pulmão coração e trato gastrointestinal). Foi realizada coleta do conteúdo estomacal e intestino delgado e grosso. As amostras foram armazenadas em frascos individuais, identificadas e imediatamente submetidas à análise parasitológica de fezes. Foi utilizada a Técnica de Sheather, 1923 Modificada (Centrífugo-Flutuação em Solução Saturada de Açúcar), para isso, foram pesadas 2g de fezes de cada animal, maceradas com 15 mL de solução saturada, homogeneizadas com um bastão, coadas e colocadas em tubo de ensaio até formar um menisco, colocada uma lamínula sobre o tubo e levadas à centrifugação por 5 minutos à 1.500 – 2.000rpm. Após, foi retirada a lamínula e colocada sobre uma lâmina e examinada ao microscópio em 100 e 400x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos animais apresentaram peso adequado quanto a linhagem e idade, sem sinais clínicos aparentes de lesão de pele ou alterações gastrointestinais. Não foram observadas espécies de ectoparasitas nos animais. Os ectoparasitas da sub-classe Acari e das ordens *Siphonaptera* e *Phthiraptera* são frequentemente encontradas parasitando animais domésticos e silvestres de vida livre (YOSHIZAWA *et al.*, 1996). Os ectoparasitas mais frequentes



descritos em colônias de roedores são *Myocoptes musculinus*, *Myobia musculi*, *Radfordia* spp. e o piolho *Poliplax spinulosa*, que é frequente em colônias de ratos convencionais (OWEN, 1992; GILIOLI, 2000; BAKER, 2006; BICALHO, *et al.*, 2007). A transmissão do ectoparasitas ocorre por contato direto da mãe para o filhote, via amamentação. Porém, as barreiras sanitárias impostas em biotérios restringem a presença desses ectoparasitas. A presença de ectoparasitas desses animais criados em biotério com o objetivo da sua utilização para pesquisa poderiam desencadear alterações nos resultados experimentais, como por exemplo anemia devido a sucção de sangue (WEISBROTH, 1982; OWEN, 1992; BAKER, 2006). É importante salientar que o controle sanitário dos animais deve ser considerado como uma questão ética, pois um animal que tenha a sua saúde afetada, responde muito mais a suas dores e deficiências orgânicas do que ao que nele está sendo testado.

Na avaliação macroscópica dos órgãos, rins e fígado não foram observadas lesões significativas. Entretanto, quando analisados o trato gastrointestinal dos animais e realizado exame parasitológico de fezes, foram encontrados, em somente 3/10 ratos adultos (Wistar), oocistos de coccídeos não esporulados. Em estudos realizados em mamíferos, em exames de fezes, os coccídeos, quando não esporulados não permitem a diferenciação de gêneros (BOWMAN *et al.*, 2006). Esses endoparasitas são considerados um grupo, separados em outros dois subgrupos: Adeleidae e Eimeriidae com ciclos biológicos similares (COX, 1994).

A família Eimeriidae é formada por vários gêneros, onde *Cystoisospora* spp. e *Eimeria* spp. apresentam maior interesse em medicina veterinária (PESSOA, 1998). A maioria desses organismos são parasitos e/ou comensais de vertebrados, encontrados no trato digestivo do hospedeiro, muitas vezes podem estar associado à ingestão de invertebrados parasitados, como os coccídios da Família Adeleidae (BROOKS, 1988). Devido à alta resistência dos oocistos, um grande número de protozoários é capaz de passar através da parede do trato intestinal sem qualquer alteração em suas características morfológicas. Os Adeleidae são frequentemente observados em hospedeiros invertebrados e ocasionalmente no conteúdo intestinal de seus predadores. Tais situações foram responsáveis por erroneamente considerarem vertebrados como seus hospedeiros definitivos (DUSZYNSKI *et al.*, 2003). Esses parasitos podem causar doença clínica ou subclínica em diferentes espécies de animais domésticos e silvestres. Para desenvolver a doença os coccídeos se multiplicam nas células intestinais causando má absorção, desidratação, perda de sangue e aumento da susceptibilidade para outros agentes patogênicos (SHIRLEY, 1994). Porém, nem um sinal clínico ou perda de peso foi observado nos animais infectados.



Figura 2. Oocistos de coccídeos não esporulados encontrado em fezes de ratos Wistar proveniente do biotério da Universidade de Cruz Alta. Técnica Centrífugo-Flutuação em Solução Saturada de Açúcar. Imagem captada microscopia óptica 400x



CONCLUSÃO

Apesar da infecção comprovada, os animais mantiveram-se em boas condições de higiene. Os animais apresentaram baixa ocorrência de infecção parasitária, o que assegura qualidade nos experimentos realizados.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.P.; Animais de Laboratório: criação e experimentação. Sc & Oliveira RS. Rio de Janeiro, FIOCRU, p. 387, 2002.
- BAKER, D.G.; Parasitic diseases. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, eds. The Laboratory Rat. San Diego: Academic Press; p. 453-78, 2006.
- BOWMAN, D.D.; LYNN, R.C.; EBERHARD, M.L.; ALCARAZ, A. Parasitologia Veterinária de Georgis. São Paulo, Manole, p.60, 2006.



- BROOKS, W. M. Entomogenous protozoa. In: IGNOFFO, C.M. CRC Handbook of Natural Pesticides. Boca Raton: CRC Press. p.1-7, 1988.
- CLOUGH, G.; Environmental effects on animals used in biomedical research. *Biology Research*, 57: 487-523, 1982.
- COX, F.E.G; The evolutionary expansion of the Sporozoa. *International Journal of Parasitology*, v.24, p.1301-1316, 1994.
- DUSZYNSKI, D.W.; *Pythonella scelopori* sp. n. (Protozoa: Eimeriidae) from a Costa Rican Lizard. *Journal of Parasitology*, v.55, p.684-685, 1969.
- FUKUI, M. et al.; Studies on the acaric dermatitis of albino mice in Japan. *Jap. exper. Anim.*, 10:83-90, 1961.
- HARKNESS, J.E. & Wagner, J.E.; *Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores*, 3ª ed. São Paulo, Roca, p.238, 1993.
- HOMBERGER, F.R. & THOMANN, P.E.; Transmission of murine viruses and mycoplasma in laboratory mouse colonies with respect to housing conditions. *Laboratorial Animal Science*, 2:113-120, 1994.
- NICKLAS, W.; BANEUX, P.; BOOT, R.; DECELLE, T.; DEENY, A.A.; FUMANELLI, M.; et al.; FELASA;); Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on Health Monitoring of Rodent and Rabbit Colonies. *Lab Anim* ;36(1). p. 20-42, 2002.
- OWEN, D.G. (Ed).; *Parasites of laboratory animals*. Laboratory Animals Handbooks., n.12. London: Royal Society of Medicine Services Limited, p.170, 1992.
- PAKES, S.P.; LU, Y.S. & MEUNIER, P.C.; Factors that complicate animal research. In: FOX, J.G.; COHEN, B.J. & LOEW, F.M. (Eds.) *Laborator*. 1984.
- PESSOA, S.B.; MARTINS, A.V.; *Parasitologia Médica*. 11 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, p.246, 1988.
- SHIRLEY M.W.; Epizootiologia. *Anais do Simpósio Internacional sobre coccidiose*. Facta Santos (Brasil): Nacional; 1994.
- WEISBROTH, S.H.; Arthropods. In: FOSTER, H.L.; SMALL, J.D.; FOX, J.G. (Eds). *The mouse in biomedical research: diseases*. New York: Academic, p.385-401, 1982.
- YOSHIZAWA, M.A.C.; SOUZA, J.L.; BREDT, A.; BAGGIO, D.; Ectoparasitos de *Rattus Novergicus* no Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira Parasitológica Veterinária*, 1996.