

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE HAMSTER COM *MYCOBACTERIUM AVIUM*: INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO, PARTIÇÃO E LACTAÇÃO NA ELIMINAÇÃO DO AGENTE PELAS FEZES

S.C. Balian, E.M.D. Oliveira, S.R. Pinheiro, J.L. Guerra, Z.M. Moraes, F. Ferreira, J.S. Ferreira Neto

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Méd. Vet. Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº. 87, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo verificar se uma situação de estresse (gestação, parto e lactação) implica na reativação de lesão entérica causada pela inoculação oral de *Mycobacterium avium* em hamster e retorno à condição de fonte de infecção, com eliminação do agente através das fezes. Foram utilizadas 24 hamsters fêmeas, as quais foram inoculadas com *Mycobacterium avium*, via oral, com a dose de 2,0 mg / animal. Em 45 oportunidades – do primeiro ao 229º dias pós-inoculação - uma amostra de fezes de cada um dos animais foi colhida para exame bacteriológico. Aos 183 dias pós-inoculação, 10 hamsters machos foram introduzidos nas gaiolas de 10 fêmeas para o acasalamento. Desses 10 acasalamentos, sete resultaram em parto. O período médio entre o contato com o macho e a parto foi de 17 dias e entre a parto e o desmame foi de 30 dias. Observou-se que a situação de estresse simulada - gestação, parto e lactação não foi capaz de reativar as lesões intestinais. Esses resultados, obtidos com a utilização de modelo biológico hamster-*Mycobacterium avium*, foram discutidos com vistas ao controle das micobacterioses em suínos.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycobacterium avium*, hamster, infecção experimental.

ABSTRACT

EXPERIMENTAL INFECTION OF HAMSTERS WITH *MYCOBACTERIUM AVIUM*: INFLUENCE OF THE PREGNANCY, BIRTHING AND LACTATION IN THE ELIMINATION OF BACTERIA BY FECES. The objective of the present work was to verify if a stressing condition (pregnancy, birthing and lactation) implicates in the reactivation of the enteric lesion caused by the oral inoculation of *Mycobacterium avium* in hamster and its return to shed the bacteria by feces. Twenty-four female hamsters were orally inoculated with *Mycobacterium avium* (2.0 mg / animal). At 45 opportunities – from the 1st to the 229th day after the inoculation – a fecal sample of each animal was collected for bacteriological procedures. At day 183 post-inoculation, 10 male hamsters were introduced in the cages of 10 females for mating. From these 10 matings, 7 resulted in birth. The average period of pregnancy was 17 days and between birth and weaning was 30 days. It was observed that the simulated stressing situation pregnancy, birthing and lactation did not reactivate the intestinal lesions. The results obtained with the use of the hamster-*Mycobacterium avium* biological model are discussed, aiming at the control of mycobacteriosis in swine.

KEY WORDS: *Mycobacterium avium*, hamster, experimental infection.

INTRODUÇÃO

As linfadenites granulomatosas nos suínos configuram tema de relevante importância. Além de gerarem perdas econômicas por condenações no abate (ACLAND & WHITLOCK, 1984), representam potencial risco para a Saúde Pública (SZAZADOS, 1993). As lesões nos suínos localizam-se 94% no trato digestivo (JANETSCHKE, 1963).

Desde o início dos anos 80 vem sendo observada uma redução na frequência de ocorrência de casos de

tuberculose em suínos pelo *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium tuberculosis*, concomitantemente ao aumento de identificação de representantes do Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) (PRITCHARD *et al.*, 1977; CASTRO *et al.*, 1978; EVERIT *et al.*, 1982; SAENZ, 1985; BALIAN *et al.*, 1997).

Considerando que representantes do MAC são amplamente distribuídos no ambiente, acredita-se que determinadas condições e fatores de manejo presentes na suinocultura moderna permitem a introdução e o estabelecimento de rotas de transmissão do agente.

Buscando esclarecer os mecanismos de patogenia dessas infecções, trabalhos de inoculação experimental de MAC em suínos, via oral, demonstraram que o foco primário de lesão se dá nas tonsilas, seguido dos linfonodos mandibulares, em aproximadamente 60 dias pós-inoculação (ACLAND & WHITLOCK, 1984), detectando-se lesões microscópicas a partir de quatro meses (ELLSWORTH *et al.*, 1980). Os autores observaram 2 períodos distintos de eliminação do agente pelas fezes: o primeiro com duração aproximada de 6 dias, a partir do dia de inoculação – resíduo de inóculo abandonando o trato digestivo – e um segundo entre o 20º e 62º dia – provavelmente decorrente de uma lesão aberta instalada na mucosa do intestino. No 69º dia – última observação feita – não mais se isolou o agente, sugerindo resolução da lesão de mucosa, considerando que não aconteceram reinfecções ou a reativação da lesão de parede intestinal, resultados sugestivos de um caráter auto-limitante da doença numa população.

Tais resultados amparam a hipótese de que se uma matriz suína é infectada no dia zero e descartadas as possibilidades de reinfecções, ela representará potencial fonte de infecção para seus filhos entre o 20º e 62º dias pós-infecção, e estes, de forma análoga, para os leitões com os quais compartilharem alojamento após o desmame. Por esta premissa, a transmissão horizontal cessaria quando os animais fossem enviados para o abate, pois as fontes de infecção seriam eliminadas da granja.

É então que surge a questão: poderia haver reativação de lesões da parede intestinal nas matrizes? Quais situações poderiam desencadear o processo? No caso afirmativo, seria possível a persistência da doença no rebanho sem a reintrodução do agente por fontes ou vias externas? Em especial, nas matrizes infectadas, a situação de gestação e lactação proporcionaria situação fisiológica favorável para haver reativação de lesões e a volta da eliminação do agente pelas fezes? WAITES & WHITE (1987) e DU MASGENET *et al.* (1987) referiram a existência de imunossupressão durante o período de gestação, gestação e lactação.

O recurso científico da utilização de modelos biológicos poderia não só responder algumas dessas dúvidas, mas também permitir que alternativas eficazes de controle das infecções por MAC fossem estudadas (GANGADHARAM *et al.*, 1989), desde que obedecidos os aspectos éticos (SMITH & JENNINGS, 1998), de segurança biológica e de viabilidade econômica.

O emprego de modelos biológicos para estudo da tuberculose tem como um de seus pioneiros VILLEMIN (1868) *apud* COLLINS & GRANGE (1983), empregando coelhos. Dentre as espécies animais estudadas, encontram-se citações em primatas (macaco Rhesus), cobaias, camundongos, hamsters e ratos (CURTISS, 1998).

A literatura permite afirmar que o hamster (*Mesocricetus auratus*) tem sido empregado como modelo biológico experimental da tuberculose com grande êxito, permitindo a descrição reprodutível do processo desencadeado pela inoculação experimental do *Mycobacterium bovis*, seja através da avaliação da dinâmica do agente em diferentes órgãos, seja pelo acompanhamento da evolução das alterações macro e microscópicas ocasionadas (MERUSSE, 1988; FERREIRA NETO *et al.*, 1994; UGAZ, *et al.*, 1999). Da mesma forma, BALIAN *et al.* (2003) descreve o hamster como um modelo apropriado para o estudo de infecções pelo Complexo *Mycobacterium avium* (MAC).

Isso posto, o presente trabalho teve por objetivo verificar se uma situação de estresse (gestação, parição e lactação) implica na reativação de lesão entérica e retorno à condição de fonte de infecção.

MATERIAL E MÉTODO

Animais

Foram utilizadas 24 hamsters adultas fêmeas, mantidas em gaiolas individuais. Durante o experimento os animais receberam ração comercial e água e foram mantidos sobre cama de maravalha, todos esterilizados. A cama foi trocada diariamente.

Delineamento experimental

O inóculo, representado pela estirpe de MAC, foi mantido no frasco tampado sobre agitador magnético, por 30 min em temperatura ambiente. Após este período, o volume total foi fracionado em frascos estéreis de 50 mL, tampados com rolha de borracha estéril e vedados com Parafilm, para facilitar seu manuseio durante a administração aos animais.

Todos os animais foram inoculados com MAC, via oral, com a dose de 2,0 mg/animal, utilizando-se seringas de insulina, sem a agulha, acopladas a uma cânula de Scalpe com 3 cm de comprimento, estéreis. A cânula possibilitou a oferta do inóculo aos animais, valendo-se apenas da deglutição espontânea, evitando-se injúrias na mucosa oral e esofágica.

Foi realizado o controle da viabilidade do inóculo imediatamente após a sua preparação, semeando-o em meio Petragani e incubando-o em estufa a 37º C por duas semanas.

Em 45 oportunidades uma amostra de fezes de cada um dos animais inoculados foi colhida para exame bacteriológico. O método de descontaminação empregado foi o Petroff modificado (Método Básico).

As amostras foram colhidas nos seguintes dias pós-inoculação 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 35, 45, 55, 61, 65, 75, 81, 85, 93, 95, 99, 117,

119, 121, 129, 139, 147, 161, 175, 183, 189, 197, 201, 205, 211, 217, 223 e 229.

Aos 183 dias pós-inoculação, 10 hamsters machos foram introduzidos nas gaiolas de 10 fêmeas para o acasalamento. No dia 199, com a observação de pelo menos uma parição, todos os machos foram privados do convívio com as fêmeas. O grupo dessas fêmeas foi denominado A e o das fêmeas não paridas B.

Desses 10 acasalamentos, 7 resultaram em parição. O período médio entre o contato com o macho e a parição foi de 17 dias e entre a parição e o desmame foi de 30 dias.

RESULTADOS

Os resultados dos isolamentos fecais de MAC estão organizados nas Figuras 1 e 2.

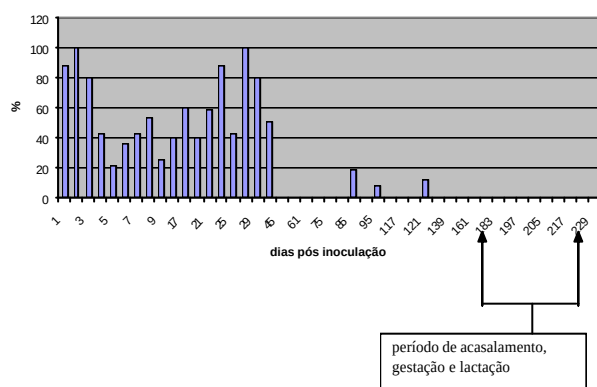


Fig. 1- Proporção de hamsters do grupo A que eliminaram MAC pelas fezes, segundo o tempo. São Paulo, 2004

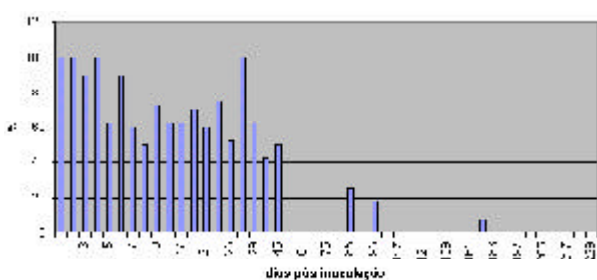


Fig. 2- Proporção de hamsters do grupo B que eliminaram MAC pelas fezes, segundo o tempo. São Paulo, 2004

DISCUSSÃO

Os resultados observados sugerem que a condição de stress simulada – gestação, parição e lactação – referida como imunossupressora por WAITES & WHITE (1987) e Du MASGENET *et al.* (1987), por si só não é capaz de reativar lesões intestinais, transformando-as em

abertas para a luz do órgão. Portanto, o hamster exposto oralmente ao MAC, passados os dois períodos de eliminação fecal descritos, não mais pode ser considerado fonte de infecção no que se refere a essa via de eliminação, mesmo mantendo uma vida reprodutiva regular.

Dada a alta suscetibilidade do hamster às micobactérias, é razoável supor que se as lesões intestinais por MAC tendem à resolução nestes animais, independentemente do stress provocado pela condição de gestação, gestação e lactação, o mesmo poderá ocorrer com suínos, admitindo-se que nestas duas espécies a suscetibilidade ao stress provocado seja igual.

Assim sendo, admitindo-se a inexistência de reativação de lesão intestinal por MAC em suínos, fato ainda não comprovado, a persistência da doença nas granjas, manifestada na forma de condenações de carcaças em abatedouro, parece depender exclusivamente de fontes ou vias externas, que uma vez individualizadas e suprimidas resultariam na solução do problema sanitário.

CONCLUSÃO

A gestação, gestação e lactação, por si só, não foi capaz de reativar lesões intestinais provocadas por MAC em hamsters.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACLAND, H.M. & WHITTLOCK, R.H. Experimental infections of pigs with *Mycobacterium avium* serotipo 4. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 8., 1984, Pennsylvania. *Proceedings*. Pennsylvania: 1984. p.141.
- BALIAN, S.C.; RIBEIRO, P.; VASCONCELLOS, S.A. PINHEIRO, S.R.; FERREIRA NETO, J.S.; GUERRA, J.L.; XAVIER, J.G.; MORAIS, Z.M.; TELLES, M.A.S. Linfadenites tuberculoides em suínos abatidos no Estado de São Paulo, Brasil: aspectos macroscópicos, histopatológicos e pesquisa de micobactérias. *Rev. Saúde Pública*, v. 31, n.4, p.391-397, 1997.
- BALIAN, S.C.; PINHEIRO, S.R.; GUERRA, J.L.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; OLIVEIRA, E.M.D.; FERREIRA NETO, J.S. Infecção experimental de hamster (*Mesocricetus auratus*) por *Mycobacterium avium*. Estudo bacteriológico e histológico. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.70, n.4, p.397-405, 2003.
- CASTRO, A.F.P.; CAMPEDELLI FILHO, O.; WAISBICH, E. Opportunist mycobacteria isolated from the mesenteric lymph nodes of apparently healthy pigs in São Paulo, Brazil. *Rev. Microbiol.*, v.9, n.2, p.74-83, 1978.
- CURTISS, J.E.C. Identification of virulence determinantss in pathogenic mycobacteria. In: VOGT, P.K. & MAHAN, M.J. (Eds.). *Bacterial infection: close encounters at the host*

- pathogen interface*. Berlim: Springer – Verlag, 1998. p.169.
- DU MASGENET, G.; HUART, J.J.; PLOUVIER, B. Immunologie et grossesse. *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, v.82, p.651-669, 1987.
- ELLSWORTH, S.; KIRKBRIDE, A.; DARREL, D.J. Excretion of *Mycobacterium avium* from lesions in the intestine and tonsils of infected swine. *Am. J. Vet. Res.*, v.41, n.9, p.1526-1530, 1980.
- EVERIT, J.; ACLAND, H.M.; WHITLOCK, R.H. Mycobacterial infection in swine. *Calif. Vet.*, v.3, p.16-18, 1982.
- FERREIRA NETO, J.S.; PINHEIRO, S.R.; MORAIS, Z.M.; SINHORINI, I.L.; ITO, F.H.; VASCONCELLOS, S.A. Avaliação quantitativa da concentração de micobactérias em órgãos e humores de hamsters experimentalmente infectados com *Mycobacterium bovis*, estirpe NA 5. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.31, n.2, p.131-139, 1994.
- GANGADHARAM, P.R.J.; PERUMAL, V.K.; PODAPATI, N.R.; TAYLOR, R.; FARHI, D.C.; ISEMAN, M.D. Susceptibility of beige mouse to *Mycobacterium avium* complex infectious by different routes of challenge. *Am. Rev. Respir. Dis.*, v.139, p.1098-1104, 1989.
- JANETSCHKE, P. Über die tuberkulose beim schwein. *Monatsh. Vet. Méd.*, v.18, n.20, p.800, 1963.
- MERUSSE, J.L. *Influência do sexo e da gestação na cinética do granuloma experimental induzido pelo B. C. G. no hamster (Mesocricetus auratus)*. São Paulo: 1988. 66p. [Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Univ. São Paulo.]
- PRITCHARD, W.D.; THOEN, C.O.; HIMES, E.M.; MUSCOPLAT, C.C.; JOHNSON, D.W. Epidemiology of mycobacterial lymphadenitis in na Idaho swine herd. *Am. J. Epidemiol.*, v.106, p.222-227, 1977.
- SAENZ, A.; THOREL, M. F.; PERDOMO, E.; LOPEZ, J.; ERRICO, F.; PAULLIER, C. pouvoir pathogene expérimental des mycobactéries dites << atypiques >> chez la souris, le hamster et le mérion étude anatomo-pathologique. *Ann. Rech. Vet.*, v.16, n.3, p.219-226, 1985.
- SMITH, J.A. & JENNINGS, M. Ethics training for laboratory animal users. *Int. J. Lab. Anim. Sci. Welfare*, v. 32, n. 2, p. 128-136, 1998.
- SZAZADOS, I. Az atípuzos mycobacteriummokkal (*Mycobacterium avium*) fertőzőttsertéshús fogyasztásának egészségügyi kockázatáról. [Health hazards of pig meat with atypical mycobacterial infection (*M. avium*)]. *Magy Allatorv.*, v.48, n.3, p.170-171, 1993.
- UGAZ, E.M.A.; PINHEIRO, S.R.; GUERRA, J.L.; PALERMO NETO, J. Effects of prenatal diazepam treatment on *Mycobacterium bovis* induced infection in hamsters. *Immunopharmacology*, v.41, p.209-217, 1999.
- VILLEMIN, J. A. Etudes Experimentales et Cliniques sur Tuberculose. Paris: Bailiere et Fils., 1968 *apud* COLLINS, C.H. & GRANGE, J.M. A review. The bovine tubercle bacillus. *J. Appl. Bacteriol.*, v.55, p.13-29, 1983.
- WAITES, G.T. & WHITE, A. Effect of pregnancy on collagen induced arthritis in mice. *Clin. Exp. Immunol.*, v.67, p.467-476, 1987.

Recebido em 5/7/04

Aceito em 16/8/04