

Infecção experimental de gerbis (*Meriones unguiculatus*) com nematódeos de ovinos: eficiência bionutricional

Helaíne Haddad Simões
MACHADO¹
Francimar Fernandes
GOMES¹
Francisco Carlos Rodrigues
de OLIVEIRA¹
Vagner Ricardo da Silva
FIUZA¹
Edenio DETMANN²

Correspondência para:
HELAÍNE HADDAD SIMÕES MACHADO
Laboratório de Sanidade Animal
Centro de Ciências e Tecnologias
Agropecuárias
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro
Av. Alberto Lamego, 2000 - Pq. Califórnia
28013-600 - Campos dos Goytacazes - RJ
heliaine@uenf.br

Recebido para publicação: 23/06/2005
Aprovado para publicação: 13/02/2006

1 - Laboratório de Sanidade Animal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes - RJ
2 - Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG

Resumo

O parasitismo por nematódeos gastrintestinais constitui uma importante causa de danos à saúde e de perdas econômicas na produção de pequenos ruminantes. O modelo laboratorial para estudos de nematódeos de ruminantes utilizando gerbis (*Meriones unguiculatus*) torna-se mais adequado quando estes animais são imunossuprimidos. Os corticosteróides são drogas freqüentemente usadas na imunossupressão de animais de biotério. O índice de eficiência bionutricional é considerado um parâmetro efetivo para avaliar os efeitos de tratamentos sobre a performance nutricional dos animais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência bionutricional de gerbis imunossuprimidos e infectados experimentalmente com larvas de nematódeos de ovinos. Os resultados indicaram que os animais que receberam a droga apresentaram maior número de nematódeos à necropsia que o grupo de animais apenas infectados. Não foi observado efeito nocivo da infecção sobre a performance dos animais. Os animais não infectados e que receberam a droga metilprednisolona tiveram performance significativamente menor que os não infectados que não receberam a mesma.

Introdução

O parasitismo por nematódeos gastrintestinais constitui uma importante causa de danos à saúde e de perdas econômicas na produção de pequenos ruminantes¹. Infecções experimentais em animais de laboratório utilizando nematódeos de ruminantes são realizadas para estudos da relação parasita-hospedeiro bem como testes *in vivo* de eficácia anti-helmíntica^{2,3}. Segundo Coutinho⁴, o modelo utilizando o coelho (*Oryctolagus cuniculus*) é considerado bom, entretanto, requer espaço e custo de manutenção mais onerosos.

Gerbis (*Meriones unguiculatus*) e ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) já foram utilizados com sucesso; porém, com a necessidade de imunossupressão prévia^{2,5,3,3}. Outras

Palavras chave:
Gerbis.
Nematódeos.
Imunossupressão.
Eficiência
bionutricional.

pesquisas foram feitas utilizando gerbis como modelo para infecções concomitantes de *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*² e para avaliar desenvolvimento e duração da imunidade adquirida contra estes parasitas⁶.

Os corticosteróides constituem drogas amplamente utilizadas na imunossupressão de animais de laboratório para fins de pesquisas em parasitologia^{7,8}. Em estudo da infecção experimental de *Strongyloides stercoralis* em gerbis, utilizou-se a metilprednisolona como droga imunossupressora⁹. Além disso, pesquisas relativas ao tratamento com metilpredni-solona para pacientes em fase de recuperação de distúrbios neurológicos e isquemia cerebral, utilizando gerbis como modelo, foram realizadas^{10,11}.

A eficiência bionutricional (EBN) é

citada como um método efetivo para avaliar o efeito de tratamentos sobre o desempenho nutricional de animais, considerada mais sensível que a conversão alimentar¹². Estudo anterior inferindo sobre a EBN de gerbis experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* comprovou os efeitos deletérios deste coccídio, bem como a susceptibilidade da espécie *M. unguiculatus* ao mesmo¹³.

Este trabalho teve como objetivo infectar experimentalmente gerbis imunossuprimidos e não imunossuprimidos com nematódeos de ovino para avaliar a EBN e, dessa maneira, contribuir para o conhecimento da relação parasita-hospedeiro, além de verificar o efeito da imunossupressão na EBN.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 20 gerbis, obtidos de colônia mantida pelo Setor de Doenças Infecto-Contagiosas e Parasitárias do Laboratório de Sanidade Animal (LSA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Os gerbis foram distribuídos em quatro grupos com cinco animais cada, um grupo com animais infectados e imunossuprimidos; um grupo com animais infectados e não-imunossuprimidos, além de dois grupos controle, um de animais não-infectados e imunossuprimidos e outro de não-infectados e não-imunossuprimidos.

As larvas infectantes (L_3) que constituíram os inóculos foram obtidas por coprocultura a partir de fezes de ovino oriundos da Região de Campos dos Goytacazes, RJ. As larvas foram imobilizadas com lugol, identificadas e contadas em alíquotas de 100ml da suspensão, em triplicata. Foram identificados os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Strongyloides*, *Bunostomum*. Os inóculos contendo os parasitas dos gêneros previamente identificados foram padronizados de modo que cada animal recebesse a dose média de $1,0 \times 10^3 L_3$

suspensas em água destilada. A imunossupressão consistiu na aplicação por via intramuscular de acetato de metilprednisolona (Depo-Medrol®, Pharmacia), na dose de 0,1ml por animal, correspondendo a 4,0mg do princípio ativo, com repetição após 21 dias.

Os animais foram mantidos em área coberta, recebendo ração própria para a espécie e água *ad libitum*. As variáveis ganho de peso e consumo de ração foram avaliadas semanalmente, durante oito semanas, desde a infecção. A infecção foi confirmada através de exames coproparasitológicos e recuperação de helmintos adultos à necropsia, 58 dias após a infecção (DAI). Os conteúdos de estômago e intestinos foram lavados sucessivas vezes e os helmintos recuperados foram fixados em formol tamponado a 10%, para em seguida serem identificados e contados.

Os resultados foram analisados estatisticamente através do teste t ($P < 0,05$) para comparação de médias, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2 ($a = 0,10$). Previamente, os dados relativos às variáveis consumo e ganho foram submetidos à avaliação quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e normalidade dos erros pelo teste de Lilliefors¹⁴. Devido à não-normalidade, os dados de ganho foram submetidos à transformação logarítmica. As estimativas de EBN foram obtidas segundo métodos descritos na literatura¹².

Resultados e Discussão

Os resultados relativos ao efeito do parasitismo em relação a EBN e do percentual das espécies de nematódeos de ovino recuperados em relação ao efeito da imunossupressão de gerbis podem ser observados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

De acordo com os resultados da tabela 1, pode-se observar que o ganho de peso e a EBN dos animais do grupo que recebeu o corticosteróide foram estatisticamente menores em relação ao grupo dos animais não medicados, durante o período experimental.

Desta forma, pode-se inferir que a administração de metilprednisolona foi capaz de exercer efeito significativo sobre a EBN dos animais, retardando o desenvolvimento dos mesmos. Estes resultados estão de acordo com a literatura, no que se refere às contra-indicações do uso de altas dosagens ou de tempo prolongado de terapia com corticosteróides¹⁵. A análise dos resultados permitiu afirmar, também, que a infecção com larvas de nematódeos de ovinos não influenciou o desempenho dos animais, visto que a EBN dos grupos inoculados (imunossuprimidos e não imunossuprimidos) não foi significantemente diferente em relação aos grupos não inoculados, ao longo do período estudado. Em estudo do desenvolvimento da imunidade em gerbis infectados com *T. colubriformis*, Ziam et al⁶,

verificaram altos níveis de IgA intestinal, bem como fora significativamente maior a resposta sistêmica de IgM e IgG quando comparada à de um grupo que não fora desafiado com a infecção. Desta forma, novos estudos devem ser realizados a fim de verificar se a não influência da infecção sobre a EBN pode ser atribuída a infectividade larvar ou ao mecanismo compensatório de resposta imunológica do hospedeiro.

Visto que o gerbil é um animal de laboratório bastante utilizado como modelo experimental e que muitas vezes requer imunossupressão prévia à infecções experimentais⁷, faz-se presente uma maior atenção aos possíveis efeitos negativos para o desenvolvimento desses animais provocados por corticóides.

Tabela 1 - Médias de quadrados mínimos, coeficientes de variação e níveis descritivos de probabilidade para o erro tipo I para as variáveis consumo e ganho médios diáários e eficiência bionutricional (EBN), de acordo com os efeitos de infecção e imunossupressão. Campos dos Goytacazes, Junho de 2005

		Variável		
Médias de Tratamentos		Consumo ¹	Ganho ²	EBN ³
Infectados	Com Imunossupressão	9,815	-1,8505	-0,0001
	Sem Imunossupressão	7,590	-2,1319	-0,2178
	Com Imunossupressão	7,622	-2,5421	-0,3434
Não-Infectados	Sem Imunossupressão	8,907	-1,4208	0,0803
	Imunossupressão			
	Valor P - Efeitos Principais			
		Infecção	0,6895	0,8800
		Imunossupressão	0,6684	0,4961
		Infecção X Imunossupressão	0,1270	0,0493
		Coeficiente de Variação (%)	24,8	37,3
		Valor P - Contrastos		
		Efeito da Infecção com Imunossupressão	-	0,1453
		Efeito da Infecção sem Imunossupressão	-	0,1496
		Efeito da Imunossupressão com Infecção	-	0,2827
		Efeito da Imunossupressão sem Infecção	-	0,0786

¹/g/animal/dia. ²/logaritmo natural de g/animal/dia. ³/EBN = 0,05861 x Consumo + 0,310794 x Ganho (Importância relativa = 73,75%)

As taxas de recuperação de helmintos adultos, em relação ao inóculo, variaram de 0,4 à 1,7% e de 0,2 à 0,5%, para os grupos imunossuprimidos e não-imunossuprimidos, respectivamente. As espécies recuperadas incluíram *H. contortus*, na porção gástrica do trato digestivo, e *T. colubriformis*, no intestino delgado (tabela 2). Em outro estudo, sobre a duração da infecção de gerbis com *T. colubriformis*, verificou-se decréscimo no número de ovos eliminados nas fezes após 31 dias da infecção e taxas de recuperação em relação ao inóculo de

0,29 à 1,43% no dia 315 e de 0,142 à 0,428% no dia 350 após a infecção³. A observação, no presente estudo, de um maior número de helmintos adultos nos animais imunossuprimidos ($P<0,05$) está de acordo com dados da literatura⁷. A presença de espécimes adultos de nematódeos de ovinos no trato digestivo dos gerbis sugere, em concordância com Ziam et al.¹⁴ e Conder et al.², que esse animal constitui modelo experimental adequado a ser tomado como referência para o estudo de verminoses que acometem pequenos ruminantes,

Tabela 2 - Espécies de nematódeos de ovinos recuperados no estômago e intestino delgado à necropsia de gerbis (*Meriones unguiculatus*). Campos dos Goytacazes, Junho de 2005

Gerbis	Tratamento	Nematódeos adultos								Total	
		<i>Haemonchus contortus</i>			<i>Trichostrongylus colubriformis</i>			Machos	Fêmeas		
		Machos	Fêmeas	Total	Machos	Fêmeas	Total				
1	I ^b	0	2	2	0	2	2			4	
2	I	2	3	5	4	7	11			16	
3	I	3	3	6	5	6	11			17	
4	I	0	1	1	2	3	5			6	
5	I	2	6	8	4	5	9			17	
Total		7	15	22	15	23	38			60	
Percentual ^a		0,7	1,5	2,2	1,5	2,3	3,8			6,0	
6	NI ^c	2	1	3	0	0	0			3	
7	NI	0	1	1	2	2	4			5	
8	NI	0	0	0	0	2	2			2	
9	NI	1	1	2	0	0	0			2	
10	NI	0	0	0	0	0	0			0	
Total		3	3	6	2	4	6			12	
Percentual ^a		0,3	0,3	0,6	0,2	0,4	0,6			1,2	

^a Helmintos recuperados em relação ao inóculo de $1,0 \times 10^3$ larvas obtidas a partir de infecção mista

^b Animal imunossuprimido com 4,0mg (0,1ml) de metilprednisolona em doses com intervalo de 21 dias

^c Animal inoculado com 0,1ml de solução fisiológica (placebo)

inclusive na avaliação *in vivo* da atividade de antihelmínticos de amplo espectro, visto que o protocolo utilizado envolveu dois gêneros com sítios de fixação distintos. Mesmo que a imunossupressão tenha colaborado para o maior sucesso da infecção, novas pesquisas devem ser realizadas a fim de se verificar se a baixa taxa de recuperação de helmintos está associada à resistência do hospedeiro ou à interação dos parasitas envolvidos.

Conclusões

A imunossupressão em gerbis causou efeito

sobre a EBN retardando o desenvolvimento deste.

Os gerbis foram capazes de albergar *H. contortus* e *T. colubriformis* no estômago e intestino delgado, respectivamente, quando infectados experimentalmente.

A infecção com larvas infectantes de espécies de nematódeos de ovinos não influenciou a EBN dos animais.

Novos estudos devem ser realizados para verificar a capacidade de gerbis em albergar nematódeos de ovinos em seu trato gastrintestinal e o efeito de infecções com uma única espécie sobre o seu desempenho.

Experimental infection of jirds (*Meriones unguiculatus*) with larve of sheep nematodes: bio-nutritional efficiency

Abstract

The gastrointestinal parasitism by nematodes constitutes an important cause of damages to the health and of economical losses in the production of small ruminants. Studies with nematodes of ruminants using jirds (*Meriones unguiculatus*) as a laboratorial model become more appropriate when the animals are immunosuppressed. Corticosteroids are drugs quite used in the immunosuppression of bovine animals. The bio-nutritional efficiency index is considered an effective parameter to evaluate the effect of treatments on the animal nutritional performance. The objective of this work was to evaluate the bio-nutritional efficiency index of jirds immunosuppressed and infected experimentally with larvae of sheep nematodes. The results indicated that the animals that received the drug presented a major number of nematodes in necropsy in relation to the group of animals just infected. There was not harmful effect of infection on the performance of animals. The noninfected animals and treated with the drug methylprednisolone had a performance significantly lower than the noninfected animals and without drug application.

Referências

- 1 ECHEVARRIA, F; et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America : Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 62, n. 3-4, p.199-206, 1996.
- 2 CONDER, G. A. E; et al. Cocurrent infections with the ruminant nematodes *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in jirds, *Meriones unguiculatus*, and use of this model for anthelmintic studies. *Journal of Parasitology*, v. 77, n. 4, p. 621-623, 1991.
- 3 ZIAM, H.; PANDEY, V. S. Duration of infection of jirds (*Meriones unguiculatus*) with *Trichostrongylus colubriformis*. *Journal of Parasitology*, v. 86, n. 4, p. 893-896, 2000.
- 4 COUTINHO, C. Infecções experimentais no coelho (*Oryctolagus cuniculus* L.) com nematódeos gastrintestinais de ovinos, bovinos e eqüinos 1983.70p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1983.
- 5 GRATION, K.A.F. A new anthelmintic assay using rats infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*, v. 42, n. 3-4, p. 273-279, 1992.
- 6 ZIAM, H. et al. Drug-abbreviated infections of *Trichostrongylus colubriformis* and development of immunity in jirds (*Meriones unguiculatus*). *Parasitology Research*, v. 86, n. 8, p. 647-654, 2000.
- 7 ZIAM, H. et al. Biological parameters of *Trichostrongylus colubriformis* in *Meriones unguiculatus*. *Veterinary Parasitology*, v. 81, n.4, p. 309-322, 1999.

Key-words:

Jirds.
Nematode.
Immunosuppression.
Bio-nutritional efficiency.

- 8 GEERTS, S.; KUMAR, V.; BRANDT, J. R. A preliminary report on *Meriones unguiculatus* as an experimental host for *Taenia saginata* metacestodes. **Veterinary Research Communication.**, v. 5, n. 3, p. 301-304, 1982.
- 9 KERLIN, R. L.; NOLAN, T. J.; SCHAD, G. A. *Strongyloides stercoralis*: histopathology of uncomplicated and hyperinfective strongyloidiasis in the Mongolian gerbil, a rodent model for human strongyloidiasis. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 411-420, 1995.
- 10 TAYLOR, M. D.; PALMER, G. C.; CALLAHAN, A. S. Kinetics of GTP-modulation of adenylate cyclase in gerbil cerebral cortex after bilateral ischemia. **Journal of Neuroscience Research**, v. 12, n. 4, p.615-621, 1984.
- 11 BRAUGHLER, J. M.; LAINER, M. J. The effects of large doses of methylprednisolone on neurologic recovery and survival in the Mongolian gerbil following three hours of unilateral carotid occlusion. **Central Nervous System Trauma**, v. 3, n. 2, p.153-162, 1986.
- 12 DETMANN, E.; et al. Aplicação comparativa de diferentes índices de avaliação da eficiência produtiva em experimentos com aves de corte. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 41. 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004 (no prelo).
- 13 FRAZÃO-TEIXEIRA, E. et al. Eficiência bionutricional de gerbis (*Meriones unguiculatus*) experimentalmente infectados com oocistos de *Cystoisospora felis* obtidos de fezes de gatos naturalmente infectados. **Revista Universidade Rural-Série Ciências da Vida**, v. 23, n. 1, p.11-12. Suplemento 2003.
- 14 SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 8. ed. Iowa: Iowa University Press, 1989. 503 p.
- 15 BOOTH, N. H., McDONALD, L. E. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1992. 997 p.