

MICROBIOTA FUNGICA NA PELAGEM DE CAMUNDONGOS DE LINHAGENS ISOGÊNICAS E CONGÊNICAS MANTIDOS EM BIOTÉRIO DE CRIAÇÃO*

MARIA DE FATIMA COSTA PIRES
Aluna de Pós-Graduação
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

SELENE DALL'ACQUA COUTINHO
Aluna de Pós-graduação
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

ADHEMAR PURCHIO
Professor Adjunto
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

THEREZA LIBERMAN KIPNIS
Professora Livre Docente
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

MARCIA NORONHA
Médica Veterinária

PIRES, M.F.C.; COUTINHO, S.D.; PURCHIO, A.; KIPNIS, T.L.; NORONHA, M. Microbiota fúngica na pelagem de camundongos de linhagens isogênicas e congênicas mantidos em biotério de criação. *Rev.Fac.Med.vet. Zootec.Univ. S.Paulo*, 23(2):139-144, 1986.

RESUMO: Com o desenvolvimento da tecnologia e do manejo de animais de laboratório, mantidos em biotérios que seguem diferentes normas de trabalho, de acordo com os objetivos a que se propõem, é mister que se avalie a microbiota dos ambientes de criação, bem como dos animais que deles fazem parte. Estudou-se a frequência de fungos na pelagem de 95 camundongos (47 machos e 48 fêmeas) de linhagens isogênicas (A/5n (10), BALB/c (16), CBA (15), C57BL/10J (10) e congênicas (B10.A (14), B10.D2/o (15) e B 10.D2/n (15), com idades que variavam entre 37 e 55 dias. A coleta de material foi realizada pela fricção de um pedaço de tapete esterilizado, em toda região corpórea dos camundongos, seguida de compressão do material em placas de Petri, contendo agar Sabouraud-xtrose acrescido de cloranfenicol (100 µg/ml) - ASD e "Mycobiotic agar" (MA), para o isolamento dos fungos. Verificou-se maior número de isolamentos no primeiro (224) do que no segundo (61). As frequências de isolamento foram, respectivamente: *Penicillium* sp (93,68%), *Trichoderma* sp (92,63%), *Cladosporium* sp (38,95%), *Tortulopsis* sp (7,37%), *Rhizopus* sp (4,21%), *Aureobasidium* sp (3,16%), *Absidia* sp (1,05%), *Aspergillus* sp (1,05%), *Mycetelia sterilia* (1,05%), *Trichotecium* sp (1,05%), *Candida* sp (1,05%) e *Rhodotorula* sp (1,05%). Maior número de gênero fúngicos foi

isolado de linhagens isogênicas e de camundongos do sexo feminino. Estes resultados foram estatisticamente significativos para $p = 0,05$ na prova dos sinais. Entre os fungos isolados nos ambientes de criação incluíram-se os seguintes gêneros: *Absidia*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Mycetelia sterilia*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Não foram encontrados fungos considerados patogênicos para as linhagens estudadas, tanto nos animais como nas diferentes salas de criação.

UNITERMOS: Animais de laboratório; Camundongos; Linhagens isogênicas; Linhagens congênicas; Fungos?

INTRODUÇÃO

Os camundongos têm sido empregados como modelo muito útil para o estudo de certos fungos patogênicos. Não obstante, estes animais podem apresentar doenças micóticas, sendo algumas delas contagiosas para o homem, assim como para uma variedade de outros animais. Vários autores observaram infecções simultâneas com isolamento da mesma espécie de dermatófito em camundongos e técnicos de laboratório, 2, 10, 12.

As dermatofitoses incluem-se entre as principais micoses que atingem estes animais, exteriorizando-se por localização superficial e comprometendo a pele e/ou pelos, com características auto-limitantes.

Segundo DOLAN et alii, 6, o calor, a umidade excessiva do ambiente e a superpopulação em gaiolas, constituem fatores que notoriamente estimulam as infecções por fungos. Assinalam, ainda, que outro fator predisponente seja a idade; animais com seis semanas de vida apresentaram maior suscetibilidade às infecções do que os mais velhos. SIMMONS & BRICK, 13, observaram que animais desvitalizados por doenças infecciosas ou desnutrição são igualmente mais suscetíveis.

Segundo BALSARI et alii, 2, diversos autores demonstraram que a ausência de lesão de pelo nos animais não atesta, necessariamente a ausência de dermatófitos. HAUJISIG, 8, isolou *T. mentagrophytes* (dermatófito habitualmente encontrado na tinea de camundongos, 3, 5, 7, 10) da pele sem lesão de 43 dos 108 camundongos examinados, além de grande variedade de fungos saprófitas.

Por se tratar de linhagens geneticamente definidas muito importantes para serem utilizadas como modelos biológicos experimentais, é imperativo que se conheça a microbiota fúngica residente e transitó-

* Trabalho realizado durante o transco. do curso de Pós-graduação - Disciplina BMM - 800 Fungos patogênicos - Departamento de Microbiologia - ICB - USP.

ria de camundongos isogênicos e congênicos. A avaliação micológica de rotina dos ambientes especiais para criação desses animais torna-se uma necessidade, dentro das normas de controle de um biotério corretamente administrado.

MATERIAL E METODOS

O isolamento de fungos foi realizado a partir da pelagem de 95 camundongos - *Mus musculus* - (47 machos e 48 fêmeas), amostra que representa 10% do total de camundongos do biotério, de linhagens isogênicas e congênicas, com idades que variaram entre 37 e 55 dias (Quad.1). Os animais não apresentavam lesões aparentes de pele e pelos e cada linhagem era mantida isoladamente, em

salas de criação pertencentes ao Biotério do Departamento de Imunologia do ICB-USP.

A coleta foi realizada pela fricção de um pedaço de tapete esterilizado em toda a região corpórea dos camundongos, seguida de compressão do material em placas de Petri contendo agar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol (100 µg/ml) - (ASD) e "Mycobiotic agar" (MA) 11.

Para o isolamento de fungos do ar das salas de criação, placas de Petri contendo ASD foram expostas, durante quinze minutos. Após período de incubação de 7 dias a 25°C, realizou-se identificação dos fungos isolados, através de técnicas micológicas usuais, 9, 15.

A prova dos sinais para caso de duas amostras relacionadas foi utilizada para determinar se havia diferença significativa na frequência de fungos entre linhagens e sexo dos animais.

QUADRO 1 - Distribuição de camundongos segundo o sexo e linhagens estudadas.

LINHAGENS	MACHOS	FEMEAS	TOTAL DOS ANIMAIS POR LINHAGEM

Isogênicas			
A/Sn	5	5	10
BALB/c	8	8	16
CBA	7	8	15
CS7BL/10J	5	5	10
subtotal	25	26	51

Congênicas			
B10.A	7	7	14
B10.D2/o	7	8	15
B10.D2/n	8	7	15
subtotal	22	22	44
TOTAL	47	48	95

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 95 camundongos estudados, foram obtidas as seguintes frequências de isolamento: *Penicillium* sp (93,68%)*, *Trichoderma* sp (92,63%)*, *Cladosporium* sp (38,95%)*, *Torulopsis* sp (7,37%)**, *Rhizopus* sp (4,21%)*, *Aureobasidium* sp (3,26%)*, *Aspidia* sp (1,05%)*, *Aspergillus* sp (1,05%)**, *Mycelia sterilia* (1,05%)*, *Trichotecium* sp

(1,05%)**, *Candida* sp (1,05%)** e *Rhodotula* sp (1,05%)**.

Segundo AHO, 1, o pelo dos animais serve como um coletor de fungos do ambiente, ocorrendo a presença de uma microbiota transitória. O estudo da microbiota da pele de animais reflete a abundância de fungos em seus ambientes, além do que, convém lembrar que estes animais estão sujeitos à microbiota da ração e da palha que lhes serve de cama.

* ASD

** MA

Conforme ilustra a (Fig.1), as linhagens isogênicas A/5n (8), BALB/c (7), CBA (5) foram as que albergaram maior número de gêneros fúngicos.

Salienta-se que os camundongos machos, apesar de apresentarem freqüências de isolamento mais altas (*Penicillium* sp, *Trichoderma* sp e *Cladosporium* sp), revelaram menor número de gêneros fúngicos (7) em relação ao das fêmeas (11) (Fig. 2). Os resultados referentes à predominância de fungos nas linhagens isogênicas e nas fêmeas apresentaram diferenças estatisticamente significativas para $p = 0,05$, na prova dos sinais.

Penicillium sp foi o fungo mais freqüente em camundongos, observação esta que coincide com a de BALSARI et alii, 2.

Entre as leveduras, prevaleceu *Torulopsis* sp e, de acordo com SMITH, 14, as espécies *T. glabrata* e *T. pintolopesii* são habitantes normais do trato digestivo desses animais.

O ASD permitiu maior número de isolamentos (224) do que o MA (61). O ASD é um meio básico utilizado para o isolamento dos gêneros fúngicos, indiscriminadamente. No MA encontramos os constituintes do ASD e mais cicloheximida, substância que tem influência seletiva no crescimento de fungos contaminantes, tornando-se, assim, importante a comparação dos dois meios.

Dos 12 gêneros fúngicos isolados, 4 foram no MA (*Aspergillus*, *Trichotecium*, *Torulopsis* e *Rhodotorula*), 5 no ASD (*Trichoderma*, *Absidia*, *Mycelia sterilia*, *Rhizopus* e *Aureobasidium*) e 3 em ambos os meios (*Penicillium*, *Cladosporium* e *Candida*).

Entre os fungos isolados nos ambientes de criação, incluem-se os seguintes gêneros: *Absidia*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Não ocorreu correlação entre os fungos isolados dos animais e os das salas de criação. BURGE et alii, 4, observaram que a presença de fungos nos ambientes nem sempre afeta a microbiota do pelo dos animais.

Não foram encontrados fungos considerados patogênicos para as linhagens estudadas, tanto nos animais como nas diferentes salas de criação. Sabe-se, todavia, que a maioria dos fungos contaminantes não são conhecidos como produtores de infecção em

animais sadios; entretanto, alguns podem tornar-se invasivos, quando ocorrem baixas de resistência no hospedeiro. Nas últimas décadas têm-se descrito vários casos de infecções fúngicas causadas por fungos saprofitas.

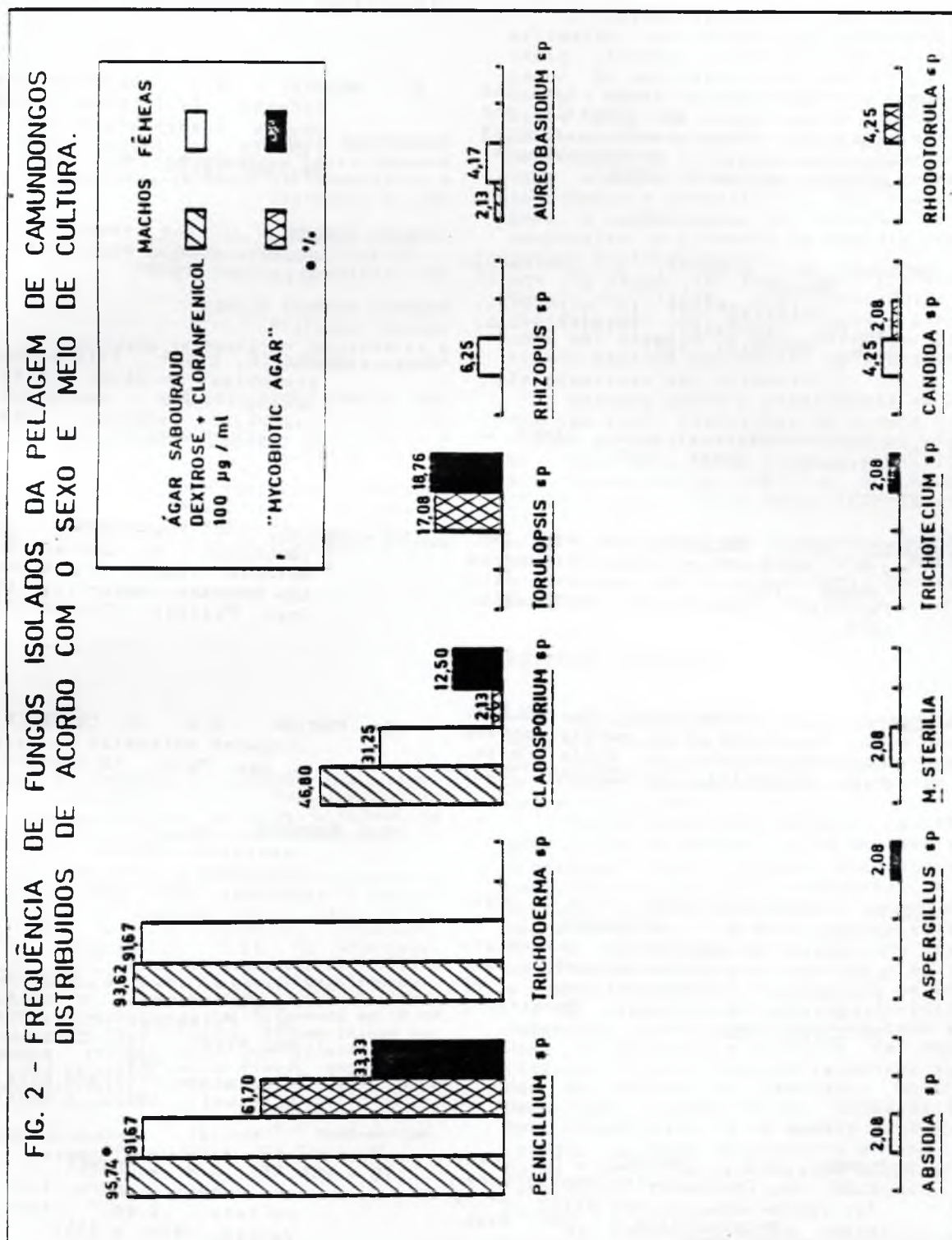
AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a valiosa colaboração técnica prestada pelo sr. Tadeu Barbosa e ao desenhista Cassiano Pereira Nunes, às figuras.

PIRES, M.F.C.; COUTINHO, S.D.; PURCHIO, A.; KIPNIS, T.L.; NORDENHA, M. Fungal microbiota of isogenic and congenic strains of mice in animal holding rooms. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 23(2):139-144, 1986.

SUMMARY: With the development of laboratory animal housing and care technology, where animals are kept under various different schemes according to specific purposes, an appropriate evaluation of the microbiota of the environment and of the animals is important. The occurrence of fungi was studied in the fur coat of 95 mice (47 males and 48 females) aging between 37 and 65 days of the following strains: isogenic A/5n (10), BALB/c (16), CBA (15), C57BL/10 J (10) and congenic B 10.A (T4), B 10.D2/o (15) e B 10.D2/n (15). The material was collected frictioning a small piece of sterilized carpet in all the extension of the mouse coracal region. Sabouraud-dextrose agar plus chloramphenicol (100 µg/ml) and "Mycobiotic agar" were used. The first medium presented a greater number of isolations (224) than the second (61). The isolation frequencies were the following: *Penicillium* sp (93,68%), *Trichoderma* sp (82,63%), *Cladosporium* sp (38,95%), *Torulopsis* sp (7,37%) *Rhizopus* sp (4,21%) *Aureobasidium* sp (3,16%), *Absidia* sp (1,05%), *Aspergillus* sp (1,05%), *Mycelia sterilia* (1,05%), *Trichotecium* sp (1,05%), *Candida* sp (1,05%), *Rhodotorula* sp (1,05%). A great number of fungi genera was isolated from isogenic strains and from female mice. These results were statistically significant ($p = 0,05$) in the signals test. The fungi isolated from the housing rooms belong to the following genera: *Absidia*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Epicoccum*, *Geotrichum*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium* and *Trichoderma*. No pathogenic fungi were found in the mice strains or in the housing rooms studies.

UNITERMS: Laboratory animals; Mice; Isogenic strains; Congenic strains; Fungi



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - AHO, R. Saprophytic fungi isolated from the hair of domestic and laboratory animals with suspected dermatomycosis. *Mycopathologia, Den Haag*, 83:65-73, 1983.
- 2 - BALSARI, A.; BIANCHI, C.; COLICIVO, A.; DRAJONI, I.; POLI, G.; PONTI, W. Dermatophytes in clinically healthy laboratory animals. *Lab. Anim.*, 15:75-77, 1981.
- 3 - BLANK, F. Favus of mice. *Canad. J. Microbiol.*, 3:885, 1957.
- 4 - BURGE, H.A.; SOLOMON, W.R.; WILLIAM, J.P. Aerometric study of viable fungus spore in animal care facility. *Lab. Anim.*, 13:333-338, 1979.
- 5 - CETIN, E.T.; TRANSINOCHI, M.; VOLKAN, S. Epizootic of *T. mentagrophytes* (interdigitale) in white mice. *Path. Microbiol.*, 28:839-846, 1965.
- 6 - DOLAN, M.M.; KLIGMAN, A.M.; KOBYLINSKI, P.G.; MOTSAVAGE, M.A. Ringworm epizootics in laboratory mice and rats: experimental and accidental transmission of infection. *J. invest. Dermatol.*, 30:23-25, 1958.
- 7 - FISCHMAN, O.G.; CAMARGO, Z.P.; GRIMBLAT, M. *Trichophyton mentagrophytes* infection in laboratory white mice. *Mycopathologia, Den Haag*, 58:113-115, 1976.
- 8 - HAUJSIG, M. Dermatophytosis in rodents, IV *Trichophyton mentagrophytes* transmission from ringworm rabbits to swine. *Vet. Archv., Zagreb*, 53:251-257, 1983.
- 9 - LODDER, J. The yeasts: a taxonomic study. 2.ed. New York, American Elsevier, 1970.
- 10 - MACKENZIE, D.W.R. *Trichophyton mentagrophytes* in mice: infections of humans and incidence among laboratory animals. *Sapouraudia*, 1:178-182, 1961.
- 11 - MARIAT, F. & CAMPOS, C.A. La technique du carré du tapis, méthode simple de prélèvement dans les mycoses superficielles. *Ann. Inst. Pasteur*, 113:666-668, 1967.
- 12 - PARISH, H.V. & CRADDOCK, S. A ringworm epizootic in mice. *Brit. J. exp. Pathol.*, 12:209-212, 1931.
- 13 - SIMMONS, M.L. & BRICK, J.O. The laboratory mouse: selection and management. New Jersey, Englewood Cliffs, 1970, p.91.
- 14 - SMITH, J.M.B. & AUSTWICK, P.K.C. Fungal disease of rats and mice. In: *Pathology of laboratory rats and mice*. In: COTCHIN, E. & ROE, F.J.C., eds. *Pathology of laboratory rats and mice*. Oxford, Blackwell, 1967. p.681-732.
- 15 - VON ARX, J.A. & CRAMER, J. The genera of fungi: sporulation in pure culture. 2.ed. Vaduz, Gantner Verlag, 1974. p.315.

Recebido para publicação em 23/4/86
 Aprovado para publicação em 27/8/85
 Impresso em 12/86