

UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE HISTERECTOMIA COMO FERRAMENTA PARA DESCONTAMINAÇÃO DE COLÔNIAS DE CAMUNDONGOS

C. M. Vinagre¹, D. P. Alves, R. Gilioli

¹CEMIB - Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório/Unicamp
e-mail: cristiane@cemib.unicamp.br

RESUMO

A histerectomia ou derivação cesariana é uma técnica utilizada para a eliminação da maioria dos agentes patógenos de camundongos e ratos que apresentam transmissão horizontal. O presente trabalho avaliou a eficácia e descreveu a técnica de histerectomia realizada em Unidade Isoladora. Camundongos imunodeficientes da linhagem C57BL/6/bg/bg que apresentavam infecções por diferentes vírus murinos, ectoparasito, endoparasito e protozoários foram submetidos à derivação cesariana. Camundongas fêmeas receptoras S.P.F. e doadoras da linhagem C57BL/6/bg/bg foram acasaladas mediante sincronismo do ciclo estral. A técnica foi realizada 12 horas antes do parto normal na seção de Quarentena do CEMIB. Foram realizadas 14 derivações cesarianas. Obteve-se êxito em relação ao aceite em cinco histerectomias. Os resultados do controle sanitário mostraram que os animais apresentavam-se isentos de todos os patógenos detectados Vírus (MHV, vírus da encefalomielite de Theiler-TMEV e Sendai), ectoparasita (*Myobia musculi*), endoparasita (*Syphacia obvelata*) e protozoários (*Spironucleus muris*, *Tritrichomonas muris*, *Entamoeba muris* e *Hexamastix muris*) antes de serem submetidos à técnica de histerectomia. Os resultados mostraram que a histerectomia é uma técnica efetiva para a obtenção de animais livres de contaminações.

Palavras-chave: Camundongos, Histerectomia, Patógenos

INTRODUÇÃO

A erradicação e controle de doenças, bem como o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas e produção de fármacos são itens indispensáveis ao bem estar humano e exigem o uso prévio de animais de laboratório para a sua validação. Portanto, para que os animais tenham um padrão sanitário que assegure a qualidade da pesquisa com universabilidade e resultados fidedignos, é necessário o desenvolvimento de técnicas capazes de eliminar patógenos que interferem nos resultados experimentais. Uma das técnicas utilizadas é a histerectomia (derivação cesariana). Neste contexto, o estabelecimento da ciência e tecnologia na área de animais de laboratório possibilitou o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas visando obter animais livres de contaminações. Dentre estas técnicas citamos a derivação cesariana ou histerectomia. A histerectomia é uma técnica utilizada para a eliminação da maioria dos agentes patógenos de camundongos e ratos que apresentam transmissão horizontal, com a finalidade de obter colônias de animais S.P.F. (Specific Pathogen free), livres de vírus, bactérias e parasitos. Camundongos imunodeficientes da linhagem C57BL/6 bg/bg que apresentavam contaminações por Vírus (MHV, vírus da encefalomielite de Theiler-TMEV e Sendai), ectoparasita (*Myobia musculi*), endoparasita (*Syphacia obvelata*) e protozoários (*Spironucleus muris*, *Tritrichomonas muris*, *Entamoeba muris* e *Hexamastix muris*), foram submetidos a derivação cesariana ou histerectomia em unidade isoladora especialmente construída para execução desta técnica. O presente trabalho teve como objetivo descrever e avaliar a eficácia desta técnica na eliminação dos patógenos de animais que apresentam transmissão horizontal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 30 fêmeas e 30 machos de camundongos da linhagem C57BL/6 bg/bg com 06 a 12 semanas de vida. Os animais foram mantidos em unidades isoladoras, receberam ração e água *ad libitum*. Estas fêmeas foram denominadas de linhagem doadora. Também foram utilizados 30 fêmeas e 30 machos de camundongos de linhagens imunocompetentes (isogênicas ou heterogênicas) com 06 a 12 semanas de vida com certificação sanitária (S.P.F.), e fenótipo preferencialmente diferente da linhagem doadora. Estas fêmeas foram denominadas de linhagem receptora. O acasalamento programado foi realizado mediante a identificação da fase do ciclo estral. As fêmeas receptoras e doadoras tiveram seu ciclo estral determinado pela coleta de fluido vaginal com o auxílio de micropipeta (10 µl) e solução salina (NaCl 0,9%) para confecção de lâminas, e observação do ciclo estral a fresco no microscópio óptico (objetiva de 10 e 40x). Posteriormente, as lâminas foram fixadas conforme método de coloração de Shorr. Delineamento Experimental – Fig. 1.

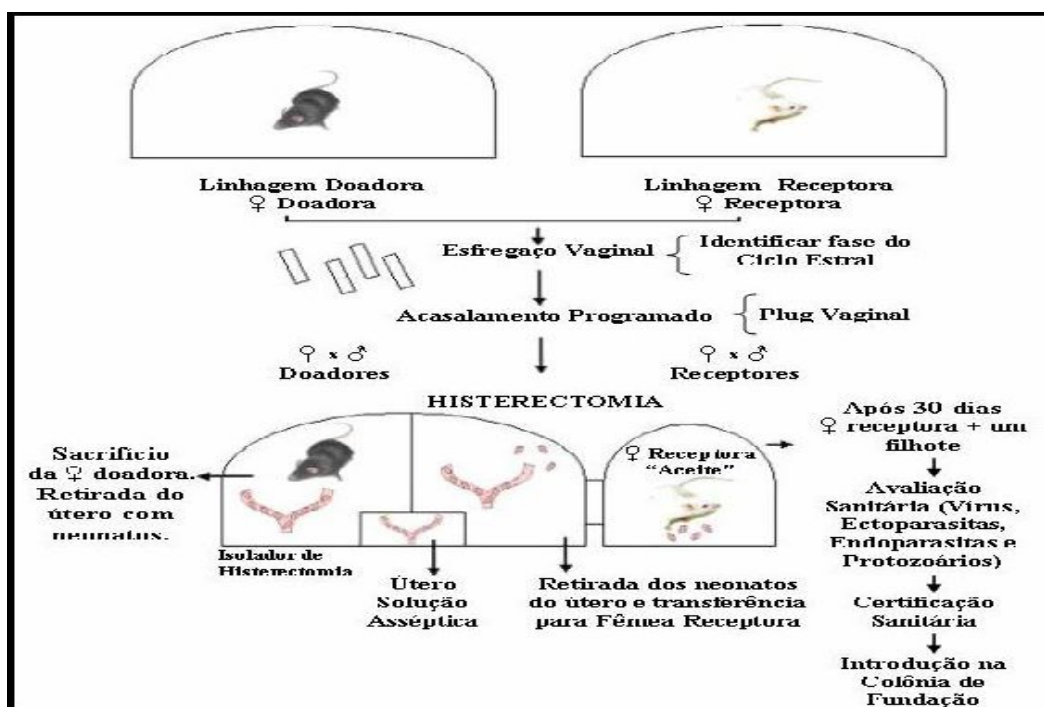


Fig. 1: Delineamento Experimental

RESULTADOS

Após avaliação do esfregaço vaginal as fêmeas receptoras e doadoras que apresentaram as fases de proestro e estro foram acasaladas no mesmo horário. Na fase proestro (fig. 2), foi observado a presença predominante de células epiteliais nucleadas, e na fase estro (fig. 3), houve predominância de células epiteliais queratinizadas. Após 12 horas de acasalamento, as fêmeas doadoras foram avaliadas quanto à presença de tampão vaginal (plug vaginal), sendo considerado o primeiro dia de prenhez. As histerectomias das fêmeas doadoras foram realizadas no final do décimo nono e início do vigésimo dia. As fêmeas doadoras foram sacrificadas por deslocamento cervical no primeiro compartimento do isolador, realizou-se uma assepsia com álcool iodado no abdômen (fig. 4) para a exposição do útero (fig. 5). Em seguida isolou-se o cérvix e os cornos uterinos por amarração (fig. 6), para a retirada asséptica, o útero foi transferido para um tanque de imersão com solução anti-séptica e controle de temperatura, para o segundo compartimento do isolador (fig. 7). Neste compartimento os neonatos foram retirados do útero, e reanimados através de movimentos circulares e periódicos, com um cotonete de papel (fig. 8). As placentas dos animais foram encaminhadas para avaliação sanitária. Os neonatos reanimados foram transferidos para o isolador com a fêmea receptora (fig. 9). Os neonatos da fêmea receptora foram retirados.

Dentre as quatorze derivações cesarianas realizadas obtivemos êxito em relação ao aceite em 35% ,ou seja, cinco histerectomias.

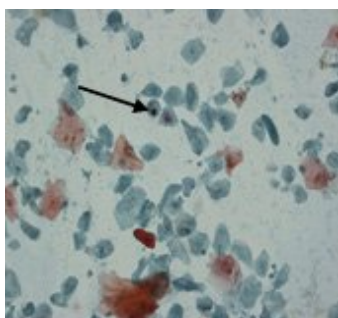


Fig. 2: Microfotografia do Ciclo Estral identificando a fase proestro – Células epiteliais nucleadas. Aumento objetiva 40x.

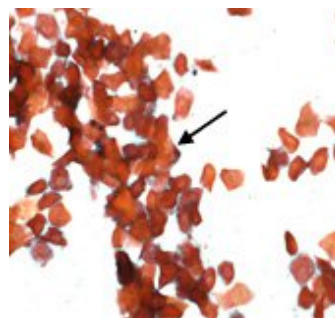


Fig. 3: Microfotografia do Ciclo Estral identificando a fase estro – Células epiteliais queratinizadas. Aumento objetiva 40x.

Após 30 dias, a fêmea receptora e um filhote foram submetidos a avaliação sanitária (testes microbiológicos, parasitológicos e virológicos). Os animais apresentaram-se isentos para todos os patógenos detectados Vírus (MHV, vírus da encefalomielite de Theiler-TMEV e Sendai), ectoparasita (*Myobia muscili*), endoparasita (*Syphacia obvelata*) e protozoários (*Spironucleus muris*, *Tritrichomonas muris*, *Entamoeba muris* e *Hexamastix muris*) antes dos mesmos serem submetidos à técnica de histerectomia.



Fig. 4: Assepsia com álcool iodado do abdômen



Fig. 5: Exposição do útero



Fig. 6: Isolamento do cérvix e dos cornos uterinos



Fig. 7: Transferência do útero com os neonatos.



Fig. 8: Reanimar os neonatos com cotonete de papel.

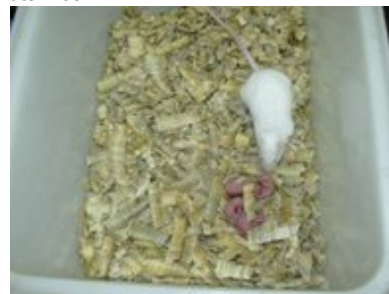


Fig. 9: Transferência dos neonatos para a fêmea receptora.

DISCUSSÃO

Estes resultados corroboram com (SEBESTINY e LEE, 1973) confirmando que a histerectomia é uma técnica efetiva para obtenção de animais livres de contaminações. Nossos resultados encontram respaldo nos trabalhos de (HOAG, 1961 FLYNN, 1973). Segundo estes autores a derivação cesariana é efetiva para eliminar patógenos de animais que apresentam transmissão por endoparasitas. Os ectoparasitas e protozoários também podem ser eliminados através da histerectomia (WAGGIE *et al*, 1994). Com relação às infecções virais, os resultados obtidos estão de acordo com LIPMAN (1987), KATAMI e colaboradores (1978) que descreveram a utilização da técnica de histerectomia para eliminação de vírus TME (vírus da encefalomielite de Theiler) e MHV (vírus da hepatite murina) das colônias de camundongos e ratos. A derivação cesariana também é efetiva para estabelecer colônias de animais livres de infecções por vírus Sendai (WAGGIE *et al*, 1994).

CONCLUSÃO

- 1- A histerectomia asséptica, realizada em unidades isoladoras, mostrou-se uma técnica eficiente para a descontaminação de patógenos de camundongos que apresentavam transmissão horizontal.
- 2- O baixo custo da técnica de histerectomia em relação a outras técnicas como transferência de embriões, possibilitou a implantação de uma rotina para a obtenção de animais livres de patógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FLYNN, R. J. Parasites of Laboratory Animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa; 236-240, 1973.
- HOAG, W. G. Oxyuriasis in laboratory mouse colonies. Am. J. Vet. Res.; 22:150-3, 1961.
- LIPMAN, H. L., NEWSOMER C. E., FOX, J. D. Rederivation of MHV and MEV antibody positive mice by cross-fostering an use of microisolator caging system. Lab. Anim. Sci., 37: 195-199, 1987.
- KATAMI, K. et al. Vertical transmission of mouse hepatitis virus infection of mice. Japão: J Exp. Med. 48: 481-490, 1978.
- SEBESTINY, A., LEE, P. Unidirectional air flow surgical isolator for hysterectomy of mice. Lab. Anim; 7(3):271-7, 1973.
- WAGGIE, K. et al. Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals. 2 ed., 1994.