

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



EDUARDO BUGELLI COL

PARASITOS DE CAMUNDONGOS DE LABORATÓRIO:  
UMA ABORDAGEM INFORMATIZADA COM ANIMAÇÕES GRÁFICAS.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Parasitologia.

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) Eduardo Bugelli Col e aprovada pela Comissão Julgadora. Ana Maria Aparecida Guaraldo

Faz parte integrante desta tese um CD-ROM com o "software" desenvolvido.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo

200334600

Campinas, SP.

2003

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SECÃO CIRCULANTE

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP C67p
V	EX
TOMBO BC/	56544
PROC.	16/129103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	2/11/03
Nº CPD	

CMOD192355-0

bibid: 305210

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

**C67p**

**Col, Eduardo Bugelli**

Parasitos de camundongos de laboratório: uma abordagem informatizada com animações gráficas / Eduardo Bugelli Col. -- Campinas, SP:[s.n.], 2003.

Orientadora: Ana Maria Aparecida Guaraldo

Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Biologia.

I. Parasitos 2. Camundongos. 3. Software. 4. Biotério. 5. Morfologia.  
I. Guaraldo, Ana Maria Aparecida. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

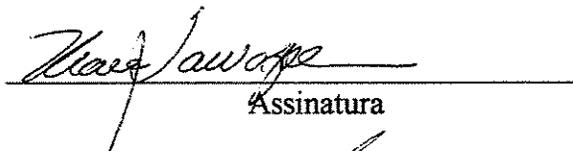
Campinas, 02 de outubro de 2003.

## Banca Examinadora

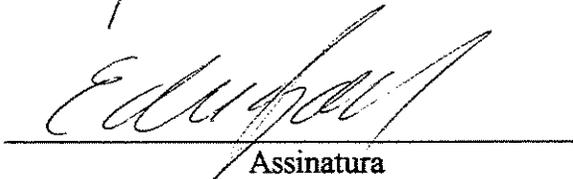
Profa. Dra.  
Ana Maria Aparecida Guaraldo

  
Assinatura

Profa. Dra.  
Urara Kawazoe

  
Assinatura

Prof. Dr.  
Eduardo Galembeck

  
Assinatura

Prof. Dr.  
Luiz Augusto Magalhães

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Prof. Dr.  
Francesco Langone

\_\_\_\_\_  
Assinatura

## Agradecimentos

À Profa. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo pelo apoio incondicional, preciosos ensinamentos, incentivo, carinho e amizade desde a época de minha graduação.

À Profa. Dra. Regina Maura Bueno Franco pela valiosíssima contribuição para minha formação acadêmica e pelas correções e sugestões dadas ao longo desse trabalho.

À Profa. Dra. Urara Kawazoe pelo auxílio, aprimoramento da produção textual, correções e esclarecimentos.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães e Prof. Dr. Odair Benedito Ribeiro pelas contribuições e participação no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Arício Xavier Linhares pela contribuição durante a análise prévia.

Ao meu grande amigo Raphael A. S. Candello pelas horas intermináveis de auxílio perante o computador.

Ao meu pai pela paciência durante as gravações de som.

Ao biólogo da Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio Juan Martin Laborde, da Faculdade de Ciências Veterinarias, Universidade Nacional de La Plata (UNLP).

À bióloga Daniele Masselli Rodrigues Demolin pela contribuição do apêndice técnico.

Aos alunos de pós-graduação de Biologia da Unicamp que avaliaram o “software”.

Aos profissionais do Departamento de Parasitologia/IB da Unicamp.

Ao Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) e seus funcionários.

Aos amantísimos colegas da época da graduação que se mostraram amigos eternos.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

“Assim diz o Senhor: Não se glorie o sábio na sua sabedoria,  
nem o forte, na sua força, nem o rico, nas suas riquezas”.

Jeremias 9:23

Embora eu reconheça que nossos avanços em conhecimento representam realmente progresso, também advertiria que nossa inclinação para depreciar o passado pressupõe que no futuro nossa confiança no presente pode ser classificada como tolice.

Ariel A. Roth

**UNICAMP**  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

## Sumário

### RESUMO

### ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 Histórico.....	1
1.2 Propósito do uso de animais de laboratório.....	2
1.3 Qualidade animal.....	3
1.4 Aos profissionais da área.....	5
1.5 Aos professores e alunos.....	5
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>7</b>
3.1 A Produção Gráfica.....	8
3.2 A análise.....	9
3.2.1 A estruturação do questionário.....	9
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
4.1 A estrutura da Interface.....	11
4.1.1 Menu Principal.....	11
4.1.2 Menu Bibliografia.....	12
4.1.3 Menu Parasitos.....	13
4.1.4 Menu “Nome do Parasito”.....	14
4.1.5 Menu de escolha da resolução .....	15
4.1.6 Menu Animação .....	16
4.2 As animações.....	17
4.2.1 Animação do parasito <i>Cryptosporidium</i> .....	17

4.2.2 Animação do parasito <i>Giardia muris</i> .....	17
4.2.3 Animação do parasito <i>Tritrichomonas muris</i> .....	18
4.2.4 Animação do parasito <i>Syphacia obvelata</i> .....	18
4.2.5 Animação do parasito <i>Myocoptes musculinus</i> .....	19
4.2.6 Animação do parasito <i>Myobia musculi</i> .....	19
4.3 Os Textos.....	20
4.3.1 <i>Cryptosporidium muris</i> / <i>C. parvum</i> .....	21
4.3.2 <i>Giardia muris</i> .....	31
4.3.3 <i>Tritrichomonas muris</i> .....	36
4.3.4 <i>Spiroucleus muris</i> .....	42
4.3.5 <i>Syphacia obvelata</i> .....	47
4.3.6 <i>Myocoptes musculinus</i> .....	53
4.3.7 <i>Myobia musculi</i> .....	58
4.4 A Avaliação.....	63
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>74</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO I – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO.....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXO II – INSTALAÇÃO DO SOFTWARE.....</b>	<b>89</b>

## Resumo

No século XX, com o surgimento da ciência de animais de laboratório, tornou-se inegável que a qualidade do animal de experimentação exerce influência direta sobre a qualidade da pesquisa. A saúde do modelo é uma das variáveis que mais diretamente define a qualidade do mesmo. Cabe ao pesquisador validar os resultados de sua pesquisa e para tanto é preciso que tenha pleno conhecimento dos parasitos que acometem as colônias de animais de laboratório, para fins de monitoramento e controle, minimizando as interferências nos resultados experimentais.

O presente trabalho produziu uma compilação de dados sobre os principais parasitos de camundongos de laboratório visando a criação de uma fonte de consulta e estudo para pesquisadores, técnicos em bioterismo e estudantes de graduação e pós-graduação.

Reconhecendo que o ensino de Parasitologia tradicional confere algumas dificuldades específicas da disciplina ao aluno e professor, exigindo momentos de abstração de ambas as partes, o presente projeto trata do desenvolvimento de um software que funciona como ferramenta auxiliar ao professor, de onde é possível trazer ao aluno uma visão global e articulada dos fenômenos dinâmicos estudados.

Foram criadas animações gráficas em ambiente tridimensional ilustrando o ciclo de vida e/ou morfologia dos parasitos: *Cryptosporidium* spp, *Giardia muris*, *Tritrichomonas muris*, *Spiroucleus muris*, *Myocoptes musculinus*, *Myobia musculi* e *Syphacia obvelata*. Um menu interativo disponibiliza textos e imagens estáticas.

A descrição do software criado, sua avaliação e perspectivas do uso na educação são aqui apresentadas.

## ABSTRACT

In the 20th century, with the sprouting of laboratory animal science, it became undeniable that the quality of the experimentation animal exerts direct influence on the research quality. The model's health is one of the variables that more directly defines its quality. It's up to the researcher to validate the results of his work and for that it is necessary to have full knowledge about the parasites that could affect the laboratory animal colonies, with the purpose of vigilance and control, minimizing the interferences in the experimental results.

The present work produced a data compilation on the main parasites of laboratory mice, aiming at the creation of a study source for researchers, technicians and students.

Recognizing that the traditional teaching in Parasitology confers some specific difficulties to the student and to the teacher, demanding abstraction moments of both parts, the present work deals with the development of a software that functions as auxiliary tool to the teacher, from which it is possible to bring to the student a global and articulated vision of the studied dynamic phenomena.

Graphical animations in three-dimensional environment have been created, illustrating the life cycle or morphology of the parasites: *Cryptosporidium parvum* and *C. muris*, *Giardia muris*, *Tritrichomonas muris*, *Spirotrichomonas muris*, *Syphacia obvelata*, *Myocoptes musculinus* and *Myobia muscili*.

The description of the created software, its evaluation and use perspectives are presented here.

# 1. Introdução

## 1.1 Histórico

A interação entre o homem e os animais existe desde os primórdios da humanidade. No processo evolutivo humano houve dominação do homem sobre os animais, principalmente para alimento, meio de transporte, vestuário e lazer.

Mesmo na Bíblia, o livro que exerceu maior influência sobre a humanidade e que a acompanha por dezenas de séculos, a narrativa de Gênesis provê uma visão aditiva da relação homem-animal, registrando o que alguns consideram instruções divinas: “Deus os abençoou e Deus lhes disse: Frutificai e multiplicai-vos e enchei a Terra, e sujeitai-a; e dominai sobre os peixes do mar, e sobre as aves dos céus, e sobre todo o animal que se move sobre a Terra” (Gênesis 1:28).

Na civilização grega, por volta do ano 450 a.C. aparece uma figura na história da humanidade que pode ser chamado o primeiro experimentador biológico que se tem registro; trata-se de Agamenon, que demonstrou a função do nervo óptico seccionando-o e provocando a cegueira em animais. Ainda no período clássico, a grande figura de Aristóteles (384-322 a.C.) escreveu sobre as bases da experimentação animal, assim como a escola de Hipócrates por volta de 300 a.C.

No Império Romano o grande nome, que contribuiu enormemente para as técnicas de dissecação em animais, foi Galeno (130-210 d.C.). Suas idéias prevaleceram, junto com as de Aristóteles, por séculos até o período do Renascimento.

Na Inglaterra, o eminente pensador Francis Bacon (1561-1626) defendeu a experimentação animal como imprescindível ao avanço da ciência e o físico inglês Robert Boyle (1627-1691) utilizou gatos e aves em suas experiências quanto à bomba pneumática.

No período do Iluminismo surgiu a preocupação com o sofrimento e bem estar animal e as experiências se multiplicaram por toda a Europa.

No começo do século XIX e final do século XVIII ocorreu um dos maiores feitos da Medicina: o uso de substâncias provindas de animais como forma de imunizar as pessoas contra determinadas doenças, ou seja, a vacinação. Grandes homens que seriam reconhecidos no meio científico mundial, passaram a utilizar “modelos animais” na

pesquisa biomédica. Louis Pasteur (1822-1895) em suas pesquisas com o carbúnculo, cólera e a raiva; Robert Koch (1843-1910) revolucionando a bacteriologia em suas pesquisas com o bacilo da tuberculose e Paul Erlich (1854-1919) em seus estudos da meningite e da sífilis.

Assim, com o passar do tempo, tornou-se mais evidente a necessidade do uso de animais na busca do avanço científico. No século XX houve grande impulso para estabelecimento da Ciência em animais de laboratório. Os roedores foram então escolhidos como o modelo mamífero básico para pesquisa biomédica devido a vários critérios como: a padronização genética de linhagens isogênicas, adaptação ao cativeiro, performance reprodutiva, fácil manejo e manutenção e baixo custo em relação a outras espécies de maior porte (Gilioli, 2003).

## **1.2. Propósito do uso de animais de laboratórios**

O propósito do uso das diferentes espécies de animais em laboratório é tão vasto quanto a ciência que estuda os modelos. Além da cura de doenças humanas, a pesquisa busca conhecer sua causa, natureza, biologia do patógeno e sua resposta no hospedeiro.

Modelos induzidos tentam recriar no animal de laboratório as condições a serem investigadas, como por exemplo, no estudo do HIV.

No caso de pesquisa sobre o câncer as características básicas dos tumores são as mesmas em humanos e outros vertebrados (Svedsen, 1994). Dessa forma, os modelos animais, principalmente mamíferos, podem ser considerados peças importantes na oncologia.

Drogas ou outras substâncias para o consumo humano precisam ser testadas antes de sua introdução no mercado. Os toxicologistas acabam por recorrer aos modelos animais, como coelhos, ratos e camundongos, para avaliar o risco de reações adversas e a segurança no uso em humanos.

Além dos casos já citados, diferentes espécies de animais de laboratório podem servir como modelo na pesquisa cardiovascular, gastroenterologia, nefrologia, neurologia, virologia, bacteriologia, parasitologia, micologia, alergia e serem utilizados em várias

instituições como hospitais, laboratórios de saúde pública, indústrias farmacêuticas, universidades e institutos de pesquisa.

Não cabe aqui o escrutínio de cada um dos vários propósitos, mas apenas salienta a importância indubitável da utilização do modelo animal para dar credibilidade na medicina e Saúde pública.

Sempre existirão ativistas contra o uso da experimentação animal; será difícil e mesmo inapropriado fazê-los calar. Essas vozes ecoando até os ouvidos dos cientistas talvez fortaleçam o seu comportamento ético e sua preocupação com o bem estar animal. O biólogo, ou o profissional da área, deve ter austeridade de caráter, seguir a legislação estabelecida por comitês de ética e, em certo sentido, agir como guardiões dos seres sobre os quais tem domínio, muitas vezes agindo como mordomos de biotérios.

### 1.3. Qualidade Animal

A importância dos biotérios na produção e manutenção de animais de laboratório certificados, passando por um monitoramento da qualidade animal, é outro ponto que deve ser destacado. A qualidade do animal de experimentação exerce influência direta sobre o quão confiáveis e reprodutíveis são os resultados da pesquisa que o utilizou. Muitas vezes o cientista busca medir respostas biológicas dos animais e sobre estas baseia o seu experimento. Devemos ter em mente que condições adversas do modelo podem corromper os resultados obtidos, gerando falsos resultados. Portanto, é indispensável adotar um animal criado e mantido em condições adequadas de nutrição, saúde, constituição genética e ambiente apropriado.

O aspecto de saúde pode se mostrar evidente em alguns casos onde os sintomas são óbvios. Porém, na maioria dos casos, o efeito da doença está mascarado e agindo sobre os resultados do experimento sem o conhecimento do pesquisador.

Nas últimas décadas houve grande desenvolvimento tecnológico em centros de bioterismo para certificar um animal axênico, livre de qualquer microbiota associada; gnotobiótico, com microbiota associada definida; ou *SPF*, livre de agentes patogênicos especificados. Lamentavelmente, quando um modelo *SPF* deixa o biotério, o pesquisador acaba por esquecer que sem a proteção dos isoladores aquele se vê a mercê de vários

patógenos. Tratados como simples reagentes guardados no laboratório, o modelo animal pode contrair doenças com sintomas quase sempre inaparentes.

A interferência de certos parasitos nos resultados experimentais é bem documentada. Flynn (1973) relata interferência na absorção intestinal em animais com o helminto *Hymenolepis nana*. Há relatos que *H. nana* pode desregular funções de células T e suprimir a resposta imune humoral; portanto, animais de laboratório infectados com *Hymenolepis nana* não são recomendados para pesquisas envolvendo imunologia, hematologia, nutrição e estudos neuroendocrinológicos.

Já os nematódeos *Syphacia obvelata* e *Syphacia muris* podem influir na ocorrência de artrites (Pearson and Taylor, 1975), fato que ocorre similarmente quando há presença do nematódeo *Aspiculuris tetraptera*. Animais parasitados com oxiurídeos não são recomendados para estudos nutricionais, imunológicos e hematológicos, pela dificuldade da manutenção de parâmetros fisiológicos normais. A redução da resistência animal e condições experimentais são fatores que podem levar a resultados experimentais não confiáveis e não reprodutíveis.

Uma função alterada dos macrófagos pode ser devido à presença de *Spironucleus muris*. A infecção com esse protozoário é um importante fator de interferência principalmente em resultados experimentais com animais imunodeficientes, geneticamente modificados, atímicos ou mesmo em neonatos.

O animal com o protozoário *Giardia muris* pode apresentar resposta imunológica alterada (Belosevic et al, 1985), assim como alteração na resposta para certas toxinas (Ljungstrom et al., 1985). Há relatos de sua interferência em pesquisas na área de Imunologia, Nutrição e Farmacologia.

Por ser um agente oportunista o protozoário do gênero *Cryptosporidium* pode interferir em resultados experimentais de diversas maneiras. Deve-se ressaltar que em modelos especiais como camundongos imunodeficientes, geneticamente modificados e em neonatos, infecções por *Cryptosporidium muris* e *C. parvum* podem ser severas e fatais, podem levar à diarreia crônica, lesões da mucosa intestinal e alteração da resposta imunológica, comprometendo os resultados de pesquisas.

No caso de ectoparasitos como os ácaros *Myocoptes musculus* e *Myobia musculi* a interferência acontece mediante o aumento na susceptibilidade ao estresse experimental e na indução de lesões cutâneas e teciduais.

#### **1.4. Aos profissionais da área**

Reconhecendo que uma compilação de dados referentes a esses parasitos seria de grande valor para os técnicos e cientistas que utilizam os modelos e que o camundongo tornou-se o mais adaptável modelo mamífero em pesquisa biomédica básica e aplicada (Bronson, 1984), o presente trabalho buscou criar um “software” a ser distribuído via CD-ROM, contendo informações sobre os principais parasitos encontrados em camundongos de laboratório.

Os parasitos abordados foram os protozoários *Giardia muris*, *Tritrichomonas muris*, *Spironucleus muris*, *Cryptosporidium muris* e *C. parvum*; o nematódeo *Syphacia obvelata* e os ácaros *Myobia musculi* e *Myocoptes musculus*. A escolha dos parasitos se baseou em um estudo da ocorrência de ectoparasitos e endoparasitos em 18 biotérios de produção brasileiros (Gilioli, 2003). O protozoário do gênero *Cryptosporidium*, apesar de não ser abordado no levantamento feito por Gilioli, será incluído no presente trabalho por se tratar de um parasito oportunista que emergiu nos últimos anos trazendo risco a modelos animais especiais que apresentam alguma deficiência no sistema imunológico.

#### **1.5. Aos professores e alunos**

Em se tratando do ensino de Parasitologia tradicional, algumas dificuldades específicas da disciplina surgem para o aluno e professor. Geralmente os alunos devem abstrair ações, morfologias e transformações fisio-morfológicas dos parasitos estudados a partir da fala e explicações dos professores, que por sua vez se esforçam a trazer para o quadro negro ou para transparências, imagens estáticas que se revelam rudimentares para explorar a complexidade do processo em explanação. Muitas vezes as transformações biológicas necessitam de um grande número de figuras para completar o esquema pretendido, outras vezes é preciso ilustrar eventos simultâneos, porém distintos.

A utilização de técnicas de informática poderá trazer aos alunos uma visão global e articulada dos fenômenos estudados. Os professores poderão se munir de animações gráficas devido a sua grande vantagem sobre as figuras convencionais, quando se trata de promover a compreensão de fenômenos essencialmente dinâmicos.

O “software” proposto no presente trabalho ao mesmo tempo poderá servir em disciplinas de parasitologia onde o professor poderá utilizar o texto, imagens e animações durante a aula com o auxílio de um projetor multimídia.

Os alunos, por sua vez, tendo o CD-ROM em mãos poderão estudar em períodos fora da sala de aula, em uma estrutura não linear, permitindo aprofundar-se em determinados tópicos ou passar rapidamente para outros, conforme seus interesses e necessidades, ditando o seu próprio ritmo de estudo.

O tema proposto também atende ao elenco de parasitos relacionados nas ementas de disciplinas de vários cursos de graduação, tais como Ciências Biológicas, Ciências Médicas, Enfermagem, Farmácia e Bioquímica, Medicina veterinária e Biomedicina.

## **2. OBJETIVOS**

Os objetivos estabelecidos no presente trabalho foram:

- Produzir uma compilação de dados sobre sete dos principais parasitos de camundongos de laboratório, abordando para cada um deles sua taxonomia, morfologia, ciclo de vida, patogenia e patologia; as respectivas técnicas de controle e de diagnóstico, assim como as possíveis interferências provocadas por esses parasitos nos resultados de pesquisas biomédicas.
  
- Criar modelos gráficos tridimensionais e informatizados dos sete parasitos abordados.

- Gerar animações gráficas para ilustrar o ciclo de vida ou a morfologia de parasitos de camundongos de laboratório, utilizando os modelos criados no computador.
- Compor um “software” em CD-ROM, disponibilizando através de menus interativos, os textos produzidos e as animações gráficas geradas a partir dos modelos criados.

Alcançado os objetivos principais, o trabalho se direcionou à:

- Investigação de experiências em disciplinas, com o material produzido, de forma a verificar se a seleção das tecnologias utilizadas foi apropriada, avaliando o grau de aceitação e rejeição do “software” pelos usuários.

A proposta do presente trabalho foi originar um software em CD-ROM que, além de conter as informações detalhadas requeridas pelos profissionais da área, deve ser acessível a alunos de disciplinas de Parasitologia, na graduação ou pós-graduação, funcionando como material didático.

A visão mágica que o biólogo detêm de seu objeto de estudo, buscando conhecê-lo acima de tudo, para só então estipular a utilidade prática de seu conhecimento, também poderá ser saciada mediante as animações disponibilizadas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O conteúdo do “software”, referindo-se às informações biológicas, foi extraído de bibliografia especializada assim como de conversas e entrevistas com pesquisadores e profissionais da área. Isso originou uma produção textual que foi disponibilizada ao usuário. Os parasitos abordados foram os protozoários *Giardia muris*, *Tritrichomonas muris*, *Spiroucleus muris*, *Cryptosporidium muris* e *C. parvum*; o nematódeo *Syphacia obvelata* e os ácaros *Myobia musculi* e *Myocoptes musculinus*. Esses parasitos são os mais freqüentes encontrados em colônias de camundongos nos biotérios brasileiros (Gilioli,

2003), com exceção de *Cryptosporidium muris* e *C. parvum*, cuja inclusão no presente trabalho se deve à importância dos cuidados para com esse parasito quando utilizados modelos animais especialmente susceptíveis como os imunodeficientes, geneticamente modificados e neonatos.

### 3.1 A PRODUÇÃO GRÁFICA

Foram produzidas, em um computador Pentium 4 de 2,00 GHz com 1,00 Gb de memória RAM, animações gráficas e telas em 3 dimensões (3D). Estas ilustram ciclos de vida dos parasitos, trechos desses ciclos, comportamentos ou a morfologia de estruturas específicas. Trata-se, porém, de animações e imagens geradas a partir de modelos gráficos inteiramente criados no computador e não a partir de filmagens feitas sobre os parasitos reais.

O programa utilizado como ferramenta para criar as animações foi o 3D Studio Max 5.0 da Discreet. Trata-se de uma ferramenta amplamente utilizada em produções gráficas, onde se criam modelos e ambientes nas chamadas estruturas de “wire-frame”. Essas consistem em representações de vértices e vetores do modelo gráfico pretendido. Posteriormente ocorre aplicação de texturas, luzes e movimentos, originando animações ou imagens estáticas.

Para a criação dos modelos dos parasitos foi feito um levantamento de artigos científicos onde havia a descrição da morfologia de cada estágio de desenvolvimento do parasito em questão. Para os protozoários, aqueles que se basearam em microscopia eletrônica foram de maior valor devido ao grau de detalhamento.

Tendo criado o modelo do parasito no computador com base nos aspectos morfológicos estudados, foi iniciada a produção das animações evidenciando pontos específicos de sua morfologia, comportamento e ciclo de vida.

O ambiente para navegação no software foi produzido no programa Flash MX da Macromedia, de forma a garantir o fácil manuseio pelo usuário. Trata-se de um programa normalmente utilizado na confecção de páginas para a Internet, mas que se adapta bem à criação da interface para um “software” a ser distribuído em CD-ROM.

## 3.2 A ANÁLISE

A análise do software foi realizada mediante a aplicação em duas disciplinas de pós-graduação em parasitologia da Faculdade de Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Campinas, durante o mês de junho de 2003. As disciplinas em que o “software” foi aplicado foram: NP131 – Técnicas Instrumentais em Parasitologia e NH006 – Animais de Laboratório em Pesquisa Biomédica, totalizando 27 alunos.

Após a utilização do programa os alunos responderam o “Questionário de Avaliação do Software Parasitos de Animais de Laboratório” (ANEXO I), que foi estruturado de forma a buscar o conhecimento das atitudes de aceitação ou rejeição pelos alunos em relação ao “software”.

O conceito de atitude pode ser definido como *"a predisposição interna afundamentada em processos perceptivos, motivacionais e de aprendizado, organizados de uma forma relativamente estável"*. (Gade, 1980, p. 99).

O conhecimento das atitudes dos alunos fornecerá bases para a tomada de decisões organizacionais em relação à produção de futuros “softwares” educativos. Apesar das inúmeras limitações de se associar diretamente atitudes à comportamentos, a sua compreensão pode indicar aspectos de grande valor para os educadores.

### 3.2.1 A estruturação do questionário

O questionário aplicado aos usuários do software (ANEXO I) é composto por itens de identificação do respondente, perguntas de opinião, espaços para comentários e por duas tabelas principais que buscaram uma avaliação pela escala de Likert (Chisnall, 1973).

A escala de Likert, ou escala somatória, diz respeito a uma série de afirmações relacionadas com o objeto pesquisado, isto é, representam várias assertivas sobre um assunto. Os respondentes não apenas respondem se concordam ou não com as afirmações, mas também informam qual seu grau de concordância ou discordância.

Chisnall (1973, p. 174 a 176) coloca que as escalas de Likert são simples de construir e permitem obter informações sobre o nível dos sentimentos dos respondentes, o que dá mais liberdade a eles, que não precisam se restringir ao simples concordo ou

discordo, usado por outras escalas como a de Thurstone. Outra vantagem da escala de Likert é que ela fornece direções sobre a atitude do respondente em relação a cada afirmação, sendo ela positiva ou negativa. No presente estudo a avaliação das frases foi feita segundo as seguintes divisões: concordo totalmente, concordo, não concordo nem discordo, discordo e discordo totalmente.

Com a finalidade de facilitar a análise das respostas, foi também utilizada uma tabulação ponderada da escala de Likert, onde:

*"Aos vários graus de concordância / discordância são atribuídos números para indicar a direção da atitude do respondente. Geralmente, os números utilizados variam de 1 a 5, ou -2, -1, 0, +1, +2. O conjunto de números utilizados não faz diferença em função das conclusões a que se quer chegar"* (Fauze, 1996, p. 97).

Dessa forma, foi atribuído um peso a cada um dos diferentes níveis de concordância, gerando um gráfico que indica as médias de concordância com a assertiva em questão (Resultados- Gráfico 2).

O exemplo a seguir ilustra um tipo de escala de Likert utilizada no questionário de avaliação do software:

<b>Legenda: DT = Discordo totalmente; D = Discordo; NA = Não concordo nem discordo; C = Concordo; CT = Concordo totalmente.</b>					
1. O texto possui informações importantes para consulta.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
2. Os tópicos abordados abrangem adequadamente cada parasito.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
3. A produção gráfica ilustra bem a realidade de cada organismo.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
4. A utilização do software não precisa ser específica para a área de animais de laboratório.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
5. Os parasitos a serem abordados foram bem escolhidos.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 A estrutura da Interface**

Ao inserir o CD-ROM, este abrirá automaticamente um menu com as opções: “Instalar”, “Iniciar” e “Sair”, com as respectivas funções de criar um ícone no computador do usuário para posterior execução, de executar o “software” a partir do CD-ROM sem a instalação do ícone e de fechar o menu.

Iniciando o “software”, este irá carregar por alguns segundos uma animação de introdução que contém o nome do programa “Parasitos de Camundongos de Laboratório” e o nome do autor. Abaixo da animação introdutória será visível um botão denominado “Pular Intro”. Finalizando esta ou clicando no referido botão, surgirá uma imagem inicial com o logotipo do software e dois botões “Sair” e “Entrar”. O botão “Sair” fechará o programa e o botão “Entrar” levará o usuário ao menu principal do software.

Em todos os menus subseqüentes ao Menu Principal existirá um botão em forma de seta direcionada à esquerda localizado no canto inferior esquerdo da tela, cuja função será sempre a de retornar ao menu anterior, o qual iremos nos referir no presente documento como botão Voltar.

#### **4.1.1 Menu Principal**

O Menu Principal contém nove botões: “Intro”, que executará novamente a animação introdutória; “Qualidade Animal”, que levará a um texto sobre a importância da produção e manutenção de animais de laboratórios certificados; “Bibliografia”, que levará ao menu “Bibliografia” (vide item 4.1.2); “Propósito do uso de animais de laboratório”, que levará a um texto sobre o propósito do uso de modelos animais na pesquisa biomédica; “Histórico”, que levará a um texto sobre a interação entre homem e animais de pesquisa; “Apêndice Técnico”, que levará a um texto contendo a descrição de oito métodos laboratoriais; “Extras”, que levará aos nomes daqueles relacionados à produção do software e informações de contato; “Parasitos”, que se apresentará de uma forma mais destacada no centro do menu e levará a um outro menu descrito no item 4.1.3; “Sair”, que fechará o programa (Figura 1).



Figura 1 – Tela com as opções do Menu Principal

#### 4.1.2 Menu Bibliografia

O Menu Bibliografia é formado por oito botões, sendo que seis deles se referem aos nomes dos parasitos abordados no software, cada um tem a função de levar o usuário a uma listagem de bibliografias referentes ao respectivo parasito. Os outros dois botões são o botão “Fundamental”, que levará a uma listagem da bibliografia fundamental do tema; e o botão Voltar (Figura 2).



Figura 2 – Tela mostrando as opções do Menu Bibliografia.

#### 4.1.3 Menu Parasitos

Esse menu consiste em nove botões, sendo que sete deles se referem aos nomes dos parasitos abordados no software e tem a função de levar o usuário a um novo menu do respectivo parasito (vide item 4.1.4); os outros dois botões restantes consistem no denominado “Principal” que tem a função de retornar ao Menu Principal; e o botão Voltar (Figura 3).

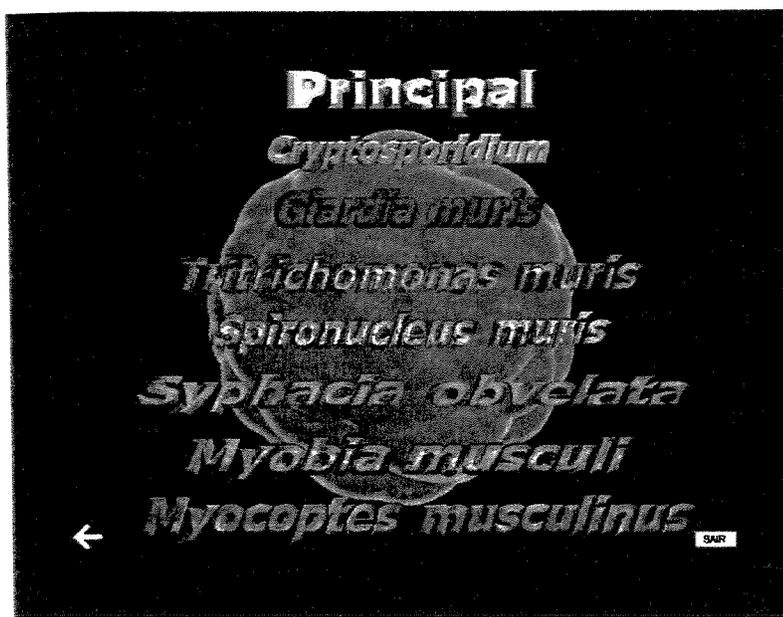


Figura 3 – Tela mostrando as opções do Menu Parasitos.

#### 4.1.4 Menu “Nome do Parasito”

Esse menu se apresenta sete vezes, uma para cada parasito, variando a tela de fundo. Para acessá-lo basta clicar no botão com o nome do parasito correspondente no Menu Parasitos.

Na parte superior da tela aparecerá o nome do parasito selecionado e logo abaixo onze botões, sendo eles: “Introdução”, “Taxonomia”, “Morfologia”, “Ciclo de Vida”, “Controle”, “Diagnóstico”, “Interferência na Pesquisa”, “Patogenia/Patologia”, “Imagens”, “Vídeos” e o botão Voltar (Figura 4).

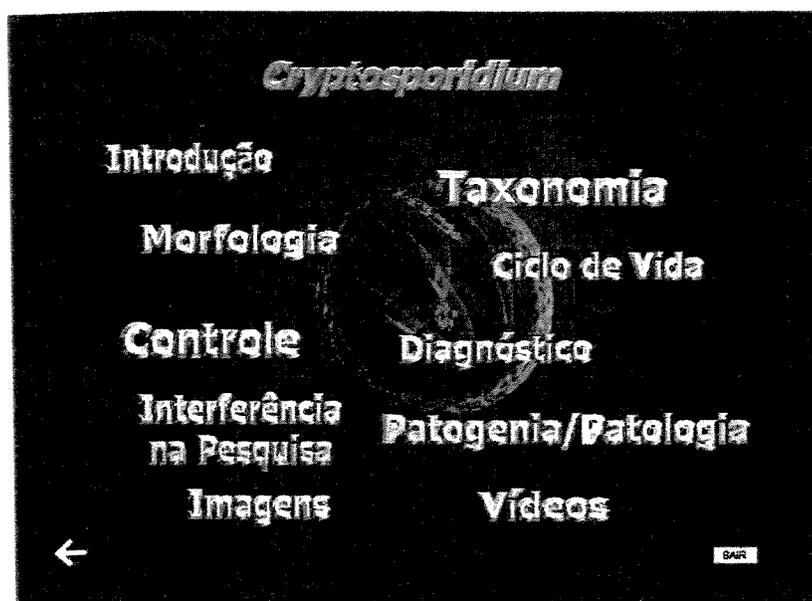


Figura 4 – Tela mostrando o Menu *Cryptosporidium*.

Todos os botões, com exceção do “Imagens” e do “Vídeo”, levam o usuário a um texto, cujo assunto refere-se ao nome do botão. Alguns desses textos contêm referências a figuras destacadas em amarelo, que podem ser clicadas levando o usuário à respectiva figura. O texto acessado através do botão “Diagnóstico” contém referências, também destacadas em amarelo, sobre metodologias de diagnóstico, que podem ser clicadas levando o usuário a uma pequena descrição do respectivo método. Por fim, abaixo de alguns dos textos poderá aparecer um botão que levará o usuário a um menu de dois botões, “320x240” e “640x480”, onde poderá ser escolhida a resolução de visualização da animação sobre o parasito em questão (vide item 4.1.5).

O botão “Imagens”, por sua vez, levará o usuário a uma galeria de imagens reduzidas, sendo que cada uma delas pode ser clicada, levando a visualização da mesma imagem em maior tamanho, algumas apresentando um botão “Legendas” que adiciona legendas à respectiva imagem. O botão “Vídeo” levará ao menu de escolha de resolução para visualização da animação, já mencionado no parágrafo anterior.

#### 4.1.5 Menu de escolha da resolução

Esse menu contém apenas dois botões e permite ao usuário escolher a resolução de visualização da animação. O botão “320x240” irá executar uma versão mais leve da animação permitindo que seja exibida em computadores com menor poder de processamento, contudo a qualidade da mesma é um pouco prejudicada.

Por sua vez, o botão “640x480” irá executar uma outra versão da mesma animação que é melhor em sua qualidade, porém exige mais do computador em que está sendo visualizada (Figura 5).

Os requisitos mínimos do sistema para o funcionamento do software estão especificados no ANEXO II.



Figura 5 – Tela do menu onde é escolhida a resolução.

#### 4.1.6 Menu Animação

Esse menu contém um número variado de botões (vide item 4.2), sendo que quatro deles, que estarão presentes na parte inferior da tela, serão sempre os mesmos: “Play”, que inicia a visualização da animação; “Stop”, que interrompe a visualização da animação, “REW”, que retorna a animação ao seu início; e o botão Voltar.

Ao centro da tela, deslocado a direita, será apresentada a animação, e a esquerda existirá um número variado de botões correspondentes a trechos específicos da animação (Figura 6).



Figura 6 – Tela do menu de animação.

## **4.2 As Animações**

Dentro do Menu Animação será apresentada a animação gráfica do respectivo parasito. Todas as animações são tridimensionais, contém efeitos sonoros, música ao fundo, narração e legenda. Visam mostrar ao usuário, de forma pedagógica e dinâmica, ilustrações do parasito estudado, no que se refere ao seu ciclo de vida e/ou morfologia.

### **4.2.1 Animação do parasito *Cryptosporidium***

O tempo de duração dessa animação é de onze minutos e cinco segundos. Ilustra todo o ciclo de vida do parasito do gênero *Cryptosporidium*.

Após a apresentação do nome do parasito, a animação tem início com a visualização do oocisto preso à mucosa intestinal, da qual se solta e parte para a fase exógena de seu ciclo de vida. Em seqüência ocorre a infecção de um novo hospedeiro no qual é ilustrado todo o desenvolvimento endógeno do parasito. Termina com o oocisto esporulado deixando a luz intestinal do hospedeiro para então reiniciar o ciclo.

Com a finalidade de facilitar a busca de trechos específicos do ciclo de vida do parasito, foram disponibilizados sete botões à esquerda da animação, sendo eles: “1.Forma Infectante”, “2.Excistação”, “3.Internalização na Célula Hospedeira”, “4.Merogonia I”, “5.Merogonia II”, “6.Gametogonia”, “7.Fecundação e Esporogonia”.

### **4.2.2 Animação do parasito *Giardia muris***

O tempo de duração dessa animação é de um minuto e vinte e três segundos. Ilustra a morfologia do trofozoíto do protozoário *Giardia muris*.

A animação tem início com a ilustração do movimento característico do trofozoíto deste protozoário. Logo após, examina a morfologia do parasito destacando para o usuário as seguintes estruturas: núcleos, cariossomos, axonemas, flagelos, corpo mediano e o disco suctorial.

Ao lado esquerdo da animação foi disponibilizado um botão denominado “1.Morfologia”, que leva a animação a um ponto onde tem início o destaque das estruturas morfológicas.

#### **4.2.3 Animação do parasito *Tritrichomonas muris***

O tempo de duração dessa animação é de dois minutos e trinta e quatro segundos. Apresenta a morfologia do trofozoíto do protozoário *Tritrichomonas muris*. Inicia-se com a ilustração do movimento característico do parasito e logo após examina com detalhe a morfologia do trofozoíto, destacando as seguintes estruturas: flagelos livres, flagelo recorrente, membrana ondulante, costa, axóstilo, fibras parabasais, núcleo e hidrogenossomos.

Ao lado esquerdo da animação foi disponibilizado um botão denominado “1.Morfologia” que leva a animação a um ponto onde tem início o destaque das estruturas morfológicas.

#### **4.2.4 Animação do parasito *Syphacia obvelata***

O tempo de duração dessa animação é de 4 minutos e nove segundos. Apresenta a morfologia do nematóide *Syphacia obvelata*.

A animação tem início com a ilustração do nematóide adulto macho e examina com detalhe a sua morfologia destacando o platô cefálico, a máscara facial, as papilas sensoriais, os anfídeos, as estruturas labiais, a asa cefálica, as projeções cuticulares ventrais, o esôfago dividido em região média prebulbar e bulbo muscular, o anel nervoso, a glândula com o poro excretor, a cloaca, o espículo e o gubernaculum. Em seguida é apresentada uma ilustração da fêmea adulta, destacando a cauda longa e afinalada, o útero, a vulva atrás do poro excretor e os ovos.

Ao lado esquerdo da animação foi disponibilizado seis botões denominados “1.Máscara Facial”, “2. Região Esofágica”, “3. Espículo”, “4. Morfologia da fêmea adulta”, “5. Vulva”, “6. Ovos”, que levam a animação aos pontos determinados.

#### **4.2.5 Animação do parasito *Myocoptes musculus***

O tempo de duração dessa animação é de quatro minutos e 3 segundos. Ilustra o ácaro *Myocoptes musculus*.

A animação tem início com a ilustração do hospedeiro que o alberga. Logo após, um zoom na pelagem do animal evidencia os ácaros presos aos pêlos. Em seguida examina-se com detalhe a morfologia do ácaro fêmeo e macho adulto destacando as seguintes estruturas: abertura anal, cerdas terminais, primeiro e segundo pares de pernas com pretarso curto e pedunculado, aparato distal que funciona como ventosas, terceiro e quarto pares de pernas modificados para fixação e, por fim, a região posterior do idiossoma, bilobada no macho adulto.

Ao lado esquerdo da animação foram disponibilizados três botões denominados “1.Localização no hospedeiro”, “2. Morfologia da fêmea adulta” e “3. Morfologia do macho adulto”, que levam a animação aos pontos determinados.

#### **4.2.6 Animação do parasito *Myobia musculi***

O tempo de duração dessa animação é de 1 minuto e cinquenta e cinco segundos. Apresenta a morfologia do ácaro *Myobia musculi*.

Inicia-se com a ilustração do parasito e logo após examina com detalhe a morfologia do ácaro destacando as estruturas: estriações transversais, protuberâncias nas margens do idiossoma, gnatossoma, primeiro par de pernas adaptado para fixação, os outros três pares de pernas menos adaptados e, por fim, a abertura genital.

Ao lado esquerdo da animação foi disponibilizado um botão denominado “1.Morfologia” que leva a animação a um ponto determinado.

### 4.3 Os Textos

A produção textual contida no CD-ROM foi criada com base em pesquisa bibliográfica em periódicos e livros especializados, assim como em conversas com profissionais da área. Os textos e as referências bibliográficas utilizadas são disponibilizados ao usuário.

Inicialmente o usuário poderá encontrar textos que irão servir como uma introdução prévia ao estudo dos parasitos de animais de laboratório. Esses consistem em:

- **Histórico** – Uma breve contextualização histórica da interação entre homens e animais, culminando com a utilização dos últimos em pesquisas biomédicas.
- **Propósito do uso de animais de laboratório** – Aborda o propósito do uso de modelos animais na pesquisa biomédica.
- **Qualidade Animal** – Aborda a importância dos biotérios na produção e manutenção de animais de laboratório certificados, destacando a importância do monitoramento da qualidade do animal de laboratório utilizado em pesquisas biomédicas.
- **Apêndice Técnico** – Descreve as principais metodologias citadas ao longo dos textos.
- **Bibliografia Geral** – Uma listagem das referências bibliográficas utilizadas.

Quanto aos sete parasitos abordados o usuário terá acesso aos seguintes textos para cada um deles:

- INTRODUÇÃO
- TAXONOMIA
- MORFOLOGIA
- CICLO DE VIDA
- PATOGENIA E PATOLOGIA
- CONTROLE
- DIAGNÓSTICO
- INTERFERÊNCIA NA PESQUISA

No presente documento os textos disponibilizados no “software”, que se referem aos parasitos, são apresentados na íntegra nos itens a seguir.

#### 4.3.1 *Cryptosporidium muris* / *C. parvum*

##### **Introdução:**

Nas últimas décadas, a pandemia de AIDS e outras causas de imunodepressão, como a exigida por tratamentos anticancerosos e transplantes de órgãos, tornaram graves muitas parasitoses geralmente benignas ou fáceis de curar, mas que nessas circunstâncias chegam a ser os fatores determinantes do óbito em imunodeficientes. Similarmente, o crescimento da utilização em laboratório de modelos animais geneticamente modificados e linhagens com comprometimento em seu sistema imunológico, traz ao pesquisador nova preocupação em manter seus animais livres de parasitos oportunistas.

O protozoário do gênero *Cryptosporidium* é um coccídio entérico, parasito de vários vertebrados, que pode ser agente de uma parasitose severa em hospedeiros imunocomprometidos.

A percepção da seriedade dos casos de criptosporidiose se deu no fim da década de 70, com casos registrados em novilhos. A partir de então, a doença começou a se mostrar de grande interesse veterinário, devido às perdas econômicas que poderia causar. Em novilhos, o quadro diarréico ocasiona desidratação, retardo no crescimento e muitas vezes, associado a outros enteropatógenos, leva à morte. Outros animais de interesse econômico também podem apresentar essa parasitose, que se mostra presente em ovinos, caprinos, suínos e aves (Graaf *et al.*, 1999).

A criptosporidiose também emergiu como uma importante doença infecciosa em humanos, destacando o perigo da veiculação hídrica e em alimentos contaminados. Nos últimos anos observou-se que a doença também é freqüente em pessoas imunocompetentes, principalmente em crianças com menos de 5 anos de idade, porém autolimitante.

##### **Taxonomia:**

Este coccídio pertence ao Filo Apicomplexa, caracterizado pela presença de um complexo apical nas formas invasoras, Classe Conoidasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Cryptosporidiidae. Porém, a

taxonomia do gênero *Cryptosporidium* está ainda incompleta e análises de DNA tem indicado que pode haver espécies ainda não classificadas. São aceitas dez espécies ao todo, como resultado de caracterização molecular. As espécies listadas são *C. parvum* que ocorre em mamíferos, com pelo menos oito genótipos distintos, *C. muris* encontrado principalmente em roedores, *C. andersoni* em gado, *C. felis* em gatos, *C. wrairi* em cobaias, *C. melegridis* e *C. baileyi* em aves, *C. serpentis* e *C. saurophilum* em répteis e *C. nasorum* em peixes (Thompson *et al.*, 2002; Fayer *et al.*, 2000). Novas espécies continuam a ser descritas, como é o caso de *Cryptosporidium canis* em cães (Fayer *et al.*, 2001) e *Cryptosporidium molnari*, recentemente descrito em peixes marinhos (Alvarez-Pellitero *et al.*, 2002). A certeza que fica é a de que a taxonomia desse gênero ainda está em formação, sendo um assunto controverso mesmo quase cem anos após a descrição original de *C. muris* e *C. parvum* por Tyzzer (1910, 1912).

Atualmente assume-se que *Cryptosporidium parvum* é a espécie principal a funcionar como agente infeccioso em humanos, contudo trabalhos recentes têm indicado duas outras espécies de *Cryptosporidium* associadas com infecções humanas (Pieniazek *et al.*, 1999; Patel *et al.*, 1999). Vale notar que há grande dificuldade em discriminar os genótipos de origem humana e animal. Certos estudos indicam haver duas populações distintas de *Cryptosporidium parvum* circulando em humanos. Uma população envolve a transmissão zoonótica de animais para humanos, com subsequente transmissão humanos-humanos e humanos-animais. A outra população envolve um ciclo exclusivamente em humanos (Peng *et al.*, 1997).

A espécie que geralmente ocorre em camundongos é denominada *Cryptosporidium muris*, além de diferenças morfológicas em relação ao *Cryptosporidium parvum* também difere em sua localização no hospedeiro vertebrado.

### **Morfologia:**

*Cryptosporidium* é um enteropatógeno encontrado em animais domésticos, humanos e em animais de laboratório. Apesar de a taxonomia do gênero ainda estar se aperfeiçoando, as espécies aceitas que ocorrem em mamíferos e que geralmente poderemos

encontrar em camundongos de laboratório são *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium muris*. Ambas diferem não só em certas características morfológicas, mas também em seu hábitat no hospedeiro vertebrado.

Identificado primeiramente por Tyzzer em 1907, *Cryptosporidium muris* parasita as células da superfície mucosa no estômago dos camundongos, geralmente nas glândulas gástricas, e pode ocorrer em outros animais de experimentação como cobaias, ratos, coelhos, cães e gatos (Iseki *et al.*, 1989). Descrito posteriormente pelo mesmo autor (Tyzzer, 1912), *C. parvum* não habita o estômago e sim as vilosidades da mucosa no intestino delgado. Porém, o local da infecção não é uma característica muito apropriada para a diferenciação entre espécies, já que esse gênero tem mostrado habilidade em variar seu nicho, infectando o sistema respiratório, útero, sistema urinário, hepatobiliar e praticamente todos os órgãos do trato gastrintestinal (Baker *et al.*, 1998).

À morfologia do oocisto deve ser creditada uma atenção especial. Essa é a forma infectante e a procurada nos exames coprológicos.

Oocistos de *C. muris* eliminados nas fezes medem cerca de 8 x 6  $\mu\text{m}$  (Uni *et al.*, 1987), enquanto que os oocistos de *C. parvum*, bem menores, medem por volta de 4 x 3  $\mu\text{m}$  (Reduker *et al.*, 1985). Ambos exibem aspecto elipsoidal ou esférico e apresentam uma sutura característica em sua parede (Fig. 1 – apresentada apenas no CD), a qual pode ser visualizada, com um pouco de atenção, em microscopia de luz.

Ainda em microscopia óptica, um dos lados do oocisto de *C. muris* se mostra ligeiramente achatado (Lindsay *et al.*, 2000), o que não é observado nos oocistos de *C. parvum*. Esse é mais um dos caracteres que podem ser utilizados na diferenciação visual das duas espécies.

Diferente de outros coccídios, o oocisto de *Cryptosporidium* é eliminado já esporulado. Seu interior possui quatro esporozoítos e um resíduo da esporulação.

Dois tipos diferentes de oocistos são produzidos no que se refere à espessura da parede, em um primeiro tipo aparece parede espessa com 40-100nm de espessura, enquanto um segundo tipo apresenta parede delgada com cerca de 3-7nm (Uni *et al.*, 1987). Atribui-

se essa variação à diferente função dos oocistos. No caso de parede espessa o oocisto resiste às condições ambientais até ser ingerido pelo novo hospedeiro, já no de parede delgada o oocisto se rompe mesmo antes de ser eliminado, reinfectando o mesmo hospedeiro.

O tamanho do *Cryptosporidium muris* é maior em comparação ao *C. parvum* não somente nos oocistos, mas sim em todos os estágios de desenvolvimento.

Os esporozoítos liberados pela ruptura do oocisto têm aspecto fusiforme, uma região apical afinada, uma pequena projeção arredondada na extremidade posterior (Fig. 2 – apresentada apenas no CD) e medem  $13 \times 1 \mu\text{m}$  e  $3,75 \times 0,57 \mu\text{m}$  respectivamente em *C. muris* e *C. parvum* (Uni *et al.*, 1987 e Reduker *et al.*, 1985). Sendo as formas invasoras, os esporozoítos apresentam um complexo apical, o que é característico no Filo Apicomplexa.

O complexo é localizado no pólo anterior do esporozoíto e constituído por uma série de estruturas que permitem a entrada na célula hospedeira.

Os micronemas estão presentes nesse complexo e participam da etapa de internalização facilitando a adesão do parasito à célula alvo. Algumas organelas de forma tubo-sacular denominadas roptrias, têm origem no retículo endoplasmático e são processadas no complexo de Golgi. Essas estruturas, preenchidas por material eletrondenso, são secretoras de substâncias que alteram a membrana da célula alvo, fazendo com que o parasito seja englobado pela mesma. Grânulos densos também estão presentes e irão proporcionar um ambiente favorável ao desenvolvimento subsequente do parasito. Já a sustentação citoesquelética durante o processo é garantida por anéis polares e por uma organela denominada conóide, a partir da qual se irradiam feixes de microtúbulos (Fig. 3 – apresentada apenas no CD).

Outra forma móvel presente no ciclo do *Cryptosporidium* é o microgameta. Este não é flagelado e possui forma alongada. Em uma das extremidades ocorre uma zona adesiva apical e uma área eletrondensa visível dentro do citoplasma. Próximo ao pólo oposto está localizado um núcleo compacto e denso, que ocupa parte substancial da célula e é circundado por uma série de microtúbulos. O microgameta de *Cryptosporidium*

*muris* mede cerca de 1,6 x 0,4 µm (Uni *et al.*, 1987) e em corte transversal aparecem onze microtúbulos ao redor do núcleo (Fig. 4 – apresentada apenas no CD).

### **Ciclo de Vida:**

*Cryptosporidium* possui um ciclo de vida monoxênico, o qual se completa passando pelo trato gastrointestinal de um único hospedeiro. A transmissão faz-se por via fecal-oral e a forma infectante, o oocisto, é ingerida pelo novo hospedeiro (Fig.1 – apresentada apenas no CD). Em seu interior encontramos quatro esporozoítos, os quais são liberados na luz gastrointestinal.

Os esporozoítos, como é característico das formas invasoras no Filo Apicomplexa, possuem um complexo apical (Fig. 2 – apresentada apenas no CD) e se aderem às células epiteliais onde ocorrerá o desenvolvimento assexuado.

Após adesão na célula hospedeira segue-se uma alteração da membrana celular, que irá envolver todo o parasito, criando um nicho específico denominado vacúolo parasitóforo. No local de contato com a célula hospedeira surge uma estrutura eletrondensa, criando para o parasito um nicho único, entre a membrana celular e o citoplasma da célula (Fig. 3 - apresentada apenas no CD). Nesta estrutura encontramos a organela de nutrição, a qual compreenderia o sítio de entrada de nutrientes e energia a partir da célula hospedeira (Baker *et al.*, 1998). A alta seletividade de tal estrutura, com relação à passagem de partículas, deve estar relacionada à grande resistência do parasito apresentada contra agentes quimioterápicos (Tzipori & Ward, 2002).

O esporozoíto então aumenta de tamanho, assumindo a forma de um trofozoíto arredondado.

O núcleo se divide para formar oito núcleos filhos e em seqüência surgem oito merozoítos alongados (Fig. 4 - apresentada apenas no CD). São os merozoítos do tipo I, os quais serão liberados na luz do órgão. Essas formas também apresentam um complexo apical e, livres, buscam células adjacentes para promover nova internalização.

Dentro da nova célula hospedeira o núcleo se dividirá em quatro núcleos filhos e originará quatro merozoítos do tipo II (Fig. 5 - apresentada apenas no CD), que também serão liberados e procurarão nova célula para novo ciclo de merogonia ou para iniciar a gametogonia.

A maioria dos merozoítos do tipo II penetrará em uma célula hospedeira para originar um macrogametócito. Nessa forma, grânulos de armazenamento de polissacarídeos são evidentes no citoplasma, assim como corpos formadores de parede do tipo I e do tipo II (Fig. 6 - apresentada apenas no CD). O macrogametócito, por sua vez, dará origem ao macrogameta.

Em outra célula das proximidades ocorreu a formação de um microgametócito pela divisão do núcleo e subsequente formação de microgametas não flagelados, os quais serão liberados (Fig. 7 - apresentada apenas no CD).

Esse microgameta fusiforme parte em busca do macrogameta maduro, aonde irá se aderir e penetrar (Fig. 8 - apresentada apenas no CD). Ocorre a fusão dos núcleos e a consequente fertilização, com a formação de um zigoto que dará origem ao oocisto, após a elaboração da membrana cística. Duas formas distintas de oocistos podem ser originadas. Uma delas apresenta parede cística fina, delgada, que se rompe facilmente para liberar esporozoítos no tubo digestivo, reinfectando o hospedeiro. Cerca de 80% dos oocistos, porém, possuem parede espessa capaz de resistir a variações do meio. Estes oocistos produzem esporozoítos no local de desenvolvimento e são eliminados esporulados nas fezes. O ciclo reinicia quando for ingerido pelo novo hospedeiro.

### **Patogenia/Patologia:**

*Cryptosporidium muris* e *Cryptosporidium parvum* são ambos agentes oportunistas que se aproveitam de uma falha imunológica do hospedeiro para então poder instalar e manifestar uma infecção mais severa. Com o sistema imunológico ainda não completamente amadurecido, animais jovens e neonatos são alvos susceptíveis ao ataque desses protozoários e apresentam quadros muito mais graves quando comparados aos animais imunocompetentes adultos. Alguns modelos utilizados também se mostram muito

vulneráveis, como ocorre em animais imunodeficientes, imunossuprimidos ou “knockouts” para interferon-gama (Griffiths *et al.*, 1998), que são aqueles com o gene corrompido para produção dessa molécula. Esses modelos permitem o estabelecimento de uma infecção persistente em animais adultos, levando a uma diarreia crônica, perda de peso e a maioria dos casos se mostram letais.

Os sintomas característicos na criptosporidiose são: diarreia, desidratação, má absorção e perda de peso. O parasitismo deve afetar o metabolismo hídrico reduzindo a superfície de absorção do epitélio, corrompendo a superfície de bordadura em escova e causando atrofia das vilosidades, hiperplasia das criptas, assim como inflamação com infiltração celular de linfócitos, macrófagos e polimorfonucleares. Em camundongos nude, uma linhagem com imunodeficiência resultante de mutações naturais, pode haver o comprometimento das vias biliares, agravando o quadro geral (Bjorneby *et al.*, 1991).

Tanto a resposta imunológica humoral como celular exercem importante papel no desenvolvimento da infecção. Em camundongos BALB/c adultos foi verificado que enquanto as células CD4 podem limitar a duração da infecção, o interferon-gama pode limitar a intensidade da mesma (Ungar *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1993).

O período pré-patente, ou seja, o tempo decorrido desde a inoculação até o aparecimento nas fezes de oocistos produzidos endogenamente, para *C. muris* é de 5 dias como verificado por Iseki (1989), contudo pode variar de 5 a 16 dias pós inóculo. No caso de *C. parvum* o período pré-patente varia de 7 a 13 dias.

Apesar de os casos característicos apresentarem a forma clínica já citada, devemos lembrar que a criptosporidiose possui quadro heterogêneo, algumas vezes se mostrando severa e muitas vezes surgindo de forma assintomática. Dessa forma, para que não sejamos enganados pela flexibilidade clínica devemos sempre ter em mente os quatro perfis principais, são eles: o assintomático, o agudo porém auto-limitante, o crônico e o fulminante.

**Controle:**

Devido à natureza robusta do protozoário e à sua habilidade em sobreviver aos processos de desinfecção e tratamento, medidas de controle e prevenção são de fundamental importância para assegurar o animal de experimentação livre de *Cryptosporidium* spp.

Os procedimentos básicos devem ser seguidos com rigor, como o uso de luvas e a lavagem e descontaminação do material e superfícies utilizadas; também é de muita importância a introdução de sistemas de barreiras sanitárias, ou seja, implantar no biotério sistemas de ventilação com climatização e filtração do ar ambiente, isolamento arquitetônico, uso obrigatório de duchas sanitizantes e uniformes apropriados pelos técnicos, métodos de manejo adequados, quarentena para animais provenientes de diversas fontes, utilização de equipamentos como unidades isoladoras, gaiolas com tampas munidas de filtros e acomodação dos animais em sistemas de fluxo de ar laminar filtrado.

Os métodos de descontaminação e esterilização tradicionais muitas vezes não funcionam para *Cryptosporidium parvum* e *C. muris*. Os oocistos são resistentes à dessecação e a muitos desinfetantes iodados, clorados, cresílicos e mesmo ao formol a 5%. O mais indicado para destruí-los é a utilização de amônia a 50% ou formalina a 10% por 30 minutos, assim como o aquecimento a 60°C por 30 minutos ou fervura por 5 minutos.

**Diagnóstico:**

As técnicas de diagnóstico rotineiras baseiam-se principalmente no reconhecimento de características específicas dos oocistos, após coloração de amostras fecais, em microscopia de luz. Contudo, a menos que o pesquisador seja experiente e tenha olho treinado, ou que a amostra esteja muito rica em quantidade do parasito, o oocisto pode ser facilmente confundido com outras formas pequenas e arredondas, como células de levedura ou mesmo outros coccídios. Sendo assim, deve-se procurar detalhes internos como a presença de quatro esporozoítos dentro do oocisto e um resíduo da esporulação. Porém nem sempre essas estruturas são visíveis.

Amostras oriundas de quadros diarréicos normalmente devem conter grande quantidade de oocistos, o que facilita grandemente o diagnóstico. Por outro lado, amostras fecais contendo poucos oocistos tornam muito difícil garantir a positividade. Nesse caso o procedimento proposto seria a execução de um método de enriquecimento da amostra por centrífugo-flutuação, podendo ser utilizada a solução de sacarose de Sheather e uma etapa de retirada de lipídios com éter. Um dado importante nesse processo: a centrifugação deve ser feita no mínimo de 500 g por 10 minutos (2000 rpm), menos que isso oocistos seriam perdidos. Alguns utilizam erroneamente o método de Ritchie que utiliza 1800 rpm, menos de 500 g.

O método de coloração mais apropriado é o procedimento álcool-ácido resistente (acid fast), onde a Técnica Modificada de Ziehl-Neelsen é a mais utilizada (Henriksen, A. & Pohlenz, J. F. L., 1981). Os procedimentos álcool-ácido resistentes são particularmente eficientes, pois coram a parede do oocisto de uma cor enquanto uma coloração de fundo irá corar o resto, incluindo certas leveduras. Contudo, o oocisto de *Cryptosporidium* apresenta uma afinidade tintorial variável.

Como certa experiência é necessária para promover a concentração, coloração e visualização dos oocistos, uma alternativa seria o uso de técnicas de imunofluorescência. Anticorpos monoclonais anti-*Cryptosporidium* estão disponíveis e vários kits podem ser encontrados no mercado. A positividade é verificada em microscopia de contraste de fase se forem encontradas estruturas ovóides ou esféricas, 8-6µm para *C. muris*, exibindo fluorescência verde brilhante com destaque para a sutura do oocisto. Apesar de ser uma boa solução para os casos onde a densidade de oocistos é baixa, esse processo é dispendioso e exige equipamentos especializados.

Com o avanço da biologia molecular, nos últimos anos surgiram técnicas que dispensam o reconhecimento morfológico do parasito por parte de um técnico treinado, o que é uma vantagem já que há evidência de que várias espécies de *Cryptosporidium* produzem oocistos indistinguíveis em microscopia óptica (Chrisp *et al.*, 1992). Desse modo, seria interessante a utilização desses métodos adicionais para diagnosticar e identificar as espécies de *Cryptosporidium* nas fezes de animais de laboratório, silvestres, humanos infectados ou mesmo na água e amostras ambientais. Há protocolos para

extração e para PCR do DNA de *Cryptosporidium*, porém esse procedimento ainda não se mostrou viável para o diagnóstico rotineiro devido à sua complexidade e aos vários fatores que podem interferir nos resultados.

### **Interferência nas Pesquisas:**

Por exibir extrema flexibilidade no que se refere à escolha do hospedeiro e por ser um agente oportunista, *Cryptosporidium* spp. pode estar interferindo no resultado de diversas pesquisas que utilizam modelos animais. Outro fator preocupante é a ampla variedade de habitats que pode infectar no hospedeiro. Existem relatos do protozoário no trato respiratório superior e inferior, útero, sistema urinário, hepatobiliar, pancreático, assim como em qualquer órgão do trato gastrointestinal, incluindo a faringe e o esôfago (Baker *et al.*, 1998).

Ao destruir as células da superfície mucosa gastrointestinal, o parasito causa má absorção de nutrientes, interferindo diretamente no crescimento do animal de experimentação, corrompendo assim pesquisas que buscam estudar efeitos de dietas específicas ou medir taxas de crescimento.

A ligeira inflamação com infiltração celular ou a resposta humoral afetam o desempenho do sistema imunológico podendo alterar os resultados de pesquisas em tal área.

Como apresenta potencial zoonótico, medidas de biosegurança devem ser tomadas, tanto no manejo dos animais como dos materiais infectados.

Por fim, vale lembrar que animais imunodeficientes, neonatos e alguns animais resultantes de manipulação genética são especialmente susceptíveis à infecção por *Cryptosporidium* e portanto exigem cuidado adicional.

### 4.3.2 *Giardia muris*

#### **Introdução:**

Indubitavelmente a luz dos órgãos digestivos nos vertebrados cria um ambiente propício para o desenvolvimento de uma série de parasitos que se aproveitam do meio acolhedor e rico em nutrientes.

Alguns são notoriamente patogênicos, enquanto outros se tornam mais evidentes em momentos específicos do estado imunológico de seus hospedeiros.

Extremamente comuns como parasitos intestinais, os flagelados do gênero *Giardia* ocorrem em grandes quantidades e podem trazer complicações para indivíduos variados.

*Giardia duodenalis*, tendo por sinonímia *G. intestinalis* ou *G. lamblia*, é a espécie mais afamada em nossa comunidade antropocêntrica, afinal trata-se da responsável pela giardíase em humanos. *Giardia muris*, por sua vez, está associada ao camundongo e merece atenção na comunidade científica que utiliza tais animais.

Tanto a giardíase humana quanto a murina estão associadas a uma gama de manifestações, desde infecções inaparentes até diarreia severa com perda de peso.

Há evidências que sugerem que o estado imunológico do hospedeiro é importante para determinar as características dos diferentes tipos de infecção. Pode haver também uma predisposição genética sendo que algumas linhagens de camundongos desenvolvem infecção mais severa e prolongada (Belosevic *et al.*, 1984).

Nas páginas que se seguem mergulharemos nos principais pontos da biologia de *Giardia muris*.

#### **Taxonomia:**

O protozoário *Giardia muris* pertence ao Filo Sarcocystophora, subfilo Mastigophora.

Esse subfilo compreende duas classes: a classe Phytomastigophorea, e a classe Zoomastigophorea que, por sua vez, se divide em oito ordens.

*Giardia muris* está contida na classe Zoomastigophorea, ordem Diplomonadida, subordem Diplomonadina, família Hexamitidae e subfamília Giardiinae.

### **Morfologia:**

*Giardia muris* é um protozoário parasito intestinal que ocorre em duas formas distintas: um cisto, que é a forma infectante e de resistência ingerida pelo novo hospedeiro, e um trofozoíto flagelado responsável pela patogenia.

O trofozoíto apresenta simetria bilateral, aspecto piriforme com o pólo anterior arredondado e o posterior extenso e afinado, mede 7-13µm de comprimento e 5-10µm de largura. Em sua face ventral há uma estrutura que cobre toda a região anterior constituindo um disco suctorial. Esse disco apresenta propriedades adesivas e promove aderência do parasito na parede intestinal. No interior do trofozoíto a maioria das estruturas aparecem duplicadas. Estão presentes os núcleos com seus cariossomos evidentes e os axonemas, que consistem em feixes de microtúbulos. Os blefaroplastos aparecem em número de oito dando início a quatro pares de flagelos. Cada par de flagelos emerge em localizações específicas. Os dois primeiros flagelos se cruzam, contornam a margem anterior e emergem lateralmente ao disco suctorial, outros dois emergem medialmente na extremidade posterior do disco, precedidos por um terceiro par de flagelos, e por fim o último par emerge na extremidade posterior do parasito em continuidade aos axonemas.

Outra estrutura evidente em microscopia óptica consiste em um par de corpos paralelos com maior afinidade tintorial nas colorações por hematoxilina. Estes são chamados corpos medianos, correspondendo na realidade ao aparelho de Golgi. (Fig. 1 – apresentada apenas no CD).

O trofozoíto apresenta achatamento dorsoventral, sendo a face dorsal convexa e a ventral, onde está presente o disco suctorial, achatada. (Fig.2 – apresentada apenas no CD).

Os cistos de *G. muris* são elipsóides e medem 15 x 17µm. Com a formação do cisto o disco suctorial desaparece, os flagelos tornam-se intracitoplasmáticos, os dois núcleos dão origem a quatro núcleos e o parasito adquire forma globosa protegido por uma grossa parede cística. Axonemas e corpos medianos também estão presentes, porém em maior número que no trofozoíto (Fig.3 – apresentada apenas no CD).

**Ciclo de Vida:**

*Giardia muris* não apresenta um estágio de desenvolvimento fora do trato gastrointestinal do hospedeiro. O cisto eliminado nas fezes permanece no meio externo até ser ingerido pelo novo hospedeiro. O processo de desencistamento inicia-se no momento de passagem pelo estômago, induzido pelas condições do meio, como acidez, potencial de óxido-redução e temperatura. Os trofozoítos, no entanto, não sobreviveriam a tais condições e portanto o desencistamento terminará, liberando o trofozoíto, apenas no ambiente mais alcalino do duodeno e início do jejuno. Este, por sua vez, é o ambiente perfeito para a colonização e o protozoário parece se beneficiar pela presença da bile e sais biliares (Farthing *et al.*, 1985). A reprodução ocorre de forma assexuada por divisão binária longitudinal (Fig.1 – apresentada apenas no CD). Os trofozoítos irão aderir à parede intestinal utilizando o seu disco suatorial e ali permanecerão nutrindo-se por pinocitose. Segue-se o processo de encistamento onde o trofozoíto transforma-se em um cisto globoso. Essa forma é eliminada nas fezes e reinicia o ciclo ao ser ingerida pelo novo hospedeiro. O período pré-patente é de 4-12 dias após ingestão e a excreção máxima de cisto ocorre de 5-14 dias após a ingestão (Heyworth *et al.*, 1988).

**Patogenia/Patologia:**

Os trofozoítos de *G. muris* podem aparecer em grandes quantidades colonizando a região proximal do intestino delgado (Fig. 1 – apresentada apenas no CD). Essa abundância pode provocar perturbações físicas na absorção de gorduras e vitaminas pelo hospedeiro, podendo criar um quadro de esteatorréia e emagrecimento. Contudo, essa obstrução física da mucosa não deve ser encarada como a causa de todos os sintomas clínicos. O trofozoíto irá aderir preferencialmente na base das vilosidades deixando a parte distal livre, e é essa a maior responsável pela absorção de nutrientes (Walzer & Genta, 1989). A redução da superfície de absorção está associada com mudanças na mucosa, particularmente com a atrofia das vilosidades e danos na bordadura em escova.

Os sintomas característicos em camundongos incluem perda de peso, pêlo eriçado, lentidão de movimento e distensão de abdômen, sendo a diarreia um sintoma que pode não estar presente.

Camundongos jovens, submetidos a algum tipo de estresse ou imunodeficientes como os atímicos, são mais susceptíveis à infecção por *G. muris*. Pode haver também uma predisposição genética sendo que algumas linhagens desenvolvem infecção prolongada, com alta carga parasitária, como é o caso de camundongos C3H/He e, com menos gravidade, camundongos BALB/c (Belosevic *et al.*, 1984).

### **Controle:**

Os surtos localizados de giardiases em camundongos de laboratório parecem resultar da contaminação da água ou, menos freqüente, de alimentos contaminados com matéria fecal. A disseminação pela colônia também pode ocorrer quando há manipulação por mãos contaminadas. A prevenção deve compreender todas as medidas higiênicas básicas de manejo recomendadas para controlar a propagação de agentes infecciosos e parasitários disseminados com as fezes.

Os cistos são susceptíveis a fenol ou lisol 2,5% e a temperaturas superiores a 50°C. O tratamento pode ser feito com dimetridazol 0,1% colocado na água dos bebedouros por um período de 14 dias (Sebesteny, 1969).

Contudo, para obter uma colônia integralmente livre de *Giardia muris*, deve haver sistemas de barreira e ser mantida por derivação cesariana.

### **Diagnóstico:**

Os métodos mais comuns para diagnóstico de giardiase consistem na procura de cistos ou trofozoítos nas fezes. Durante os períodos de rápido trânsito intestinal, não apenas os cistos são eliminados mas também certa quantidade de trofozoítos, que não sobrevivem no meio externo. Desse modo, no caso de fezes formadas deve-se proceder a busca por cistos de *Giardia*, enquanto que nas evacuações diarréicas busca-se trofozoítos e cistos.

Pequenas quantidades de fezes podem ser misturadas com solução salina e a preparação deve ser corada com Lugol, o que irá evidenciar as estruturas internas. A preparação com salina ainda é interessante pois permite a visualização da motilidade dos trofozoítos. Seus flagelos conferem um movimento característico, rápido, intermitente e cambalhoteante o que permite rápida identificação ao microscópio óptico.

Técnicas de concentração de cistos podem facilitar o diagnóstico. O método mais utilizado para cistos de *Giardia* é o método de Faust e cols., que consiste em um enriquecimento por centrífugo-flutuação dos cistos em solução de sulfato de zinco a 33% e densidade de 1180.

Devido a variação temporal na excreção de cistos alguns exames podem não detectar de imediato cistos nas fezes, devem-se então realizar numerosos exames para obter um diagnóstico preciso para *G. muris*.

#### **Interferência na Pesquisa:**

*Giardia muris* pode ser encontrada em camundongos, ratos, hamsters e em roedores silvestres. Seu potencial de produzir infecção aguda ou crônica em grande variedade de animais de laboratório deve ser encarado com seriedade por bioteristas ou pesquisadores que utilizam tais animais. Apesar de ser assintomática a grande parte das infecções, a presença do parasito pode estar influenciando diretamente no resultado da pesquisa em que está sendo utilizado o modelo animal. O animal com *G. muris* pode apresentar resposta imunológica alterada (Belosevic *et al.*, 1985), assim como alteração na resposta para certas toxinas (Ljungstrom *et al.*, 1985). A presença do protozoário interfere em estudos que envolvam o sistema gastrintestinal podendo também incrementar a gravidade de infecções inaparentes por outros agentes infecciosos. O parasito ainda pode provocar morbidade e mortalidade em roedores utilizados em pesquisa devido a mudanças histológicas, enzimáticas e ultraestruturais no intestino delgado (Buret *et al.*, 1990). Estes fatores são especialmente notados em animais atímicos, timectomizados, imunossuprimidos, hipogamaglobulinêmicos ou submetidos a dietas deficientes.

Conclui-se que animais portadores de *G. muris* não devem ser utilizados em pesquisas, principalmente com ênfase nas áreas de Imunologia, Nutrição e Farmacologia.

### 4.3.3 *Tritrichomonas muris*

#### **Introdução:**

Existem muitos parasitos que se tornaram comuns em camundongos de laboratório convencionais, a maioria dos quais pode ser eliminado se a colônia for mantida por derivação cesariana.

Um agente não patogênico mas que aparece com freqüência em camundongos, ratos e hamsters de laboratório é denominado *Tritrichomonas muris*. Trata-se de um protozoário flagelado parasito intestinal conhecido por habitar a região do ceco desses animais.

O trofozoíto pode muitas vezes ser observado em abundância no conteúdo cecal. Ao observarmos sua motilidade, em preparações à fresco, torna-se evidente a presença de uma membrana ondulante característica, acompanhada por um flagelo recorrente.

Alguns membros da família Trichomonadidae provocam danos graves em seu hospedeiro, como é o caso de *Trichomonas gallinae* em pombos ou *Tritrichomonas foetus* na vaca. Diferentemente, em infecções por *Tritrichomonas muris* não se podem evidenciar lesões no animal hospedeiro e sua patogenicidade é muito pouco conhecida.

#### **Taxonomia:**

*Tritrichomonas muris* é um protozoário parasito pertencente ao Filo Parabasalia. Os indivíduos desse filo são protistas flagelados anaeróbicos caracterizados por conter um aparelho parabasal composto por um corpo parabasal, que representa o complexo de Golgi, e um filamento parabasal (vide tópico Morfologia).

O filo Parabasalia é composto por duas classes, Trichomonadea e Hypermastiginea, sendo que *T. muris* pertence à classe Trichomonadea, ordem Trichomonadida. As espécies dessa ordem são divididas em cinco famílias: Monocercomonadidae, Trichomonadidae, Cochlosomatidae, Devescovinidae e Calonymphidae (Cavalier-Smith, 1993)

A família Trichomonadidae, por sua vez, se divide em quatro subfamílias: Tritrichomonadinae, Trichomonadinae, Trichomitopsinae e Pentatrichomonoidinae. As

duas principais são Trichomonadinae, incluindo o parasito humano *Trichomonas vaginalis*, e Tritrichomonadinae, que inclui o parasito bovino *Tritrichomonas foetus* e o murino *Tritrichomonas muris* (Visgogliosi *et al.*, 1993).

A análise da filogenia do grupo Parabasalia torna-se muito interessante quando focalizamos o tópico sobre a origem dos hidrogenossomos. Sabemos que esses organismos não possuem mitocôndrias e que a energia não provém da fosforilação oxidativa e sim de um metabolismo que produz H<sub>2</sub> nos hidrogenossomos. Outros grupos de eucariotos (percolozoa, ciliados, fungos) apresentam espécies isoladas que também possuem hidrogenossomos, e nesses organismos invariavelmente faltam mitocôndrias. Essa exclusão mútua de mitocôndrias e hidrogenossomos poderia levar à conclusão de que as mitocôndrias se transformaram em hidrogenossomos ao longo da evolução desse organismo, razão pela qual os Parabasalia foram excluídos dos Archezoa (Cavalier-Smith, 1987). Contudo, mitocôndrias não foram encontradas em nenhum dos predecessores do grupo Parabasalia. Desse modo, os hidrogenossomos podem compartilhar um ancestral comum com essas organelas. O simbiote, que teoricamente teria originado a mitocôndria, poderia seguir um novo ramo evolutivo até os hidrogenossomos. Contudo, essa teoria pressupõe que o ancestral possuía uma diversidade metabólica muito maior do que a mitocôndria contemporânea.

A única coisa que podemos afirmar é que os grupos de protistas sem mitocôndrias representam os eucariotos mais antigos da árvore evolutiva.

### **Morfologia:**

O trofozoíto de *Tritrichomonas muris* mede cerca de 16-26 µm de comprimento por 10-14 µm de largura. Sua forma pode variar, contudo geralmente apresenta formato alongado ou piriforme (Daniel *et al.*, 1971). O protozoário apresenta três flagelos livres anteriores e um flagelo recorrente. Os primeiros emergem a partir do blefarooplasto em uma depressão na extremidade anterior do parasito denominada canal periflagelar, a partir da onde se estendem livremente. O flagelo recorrente emerge também no pólo anterior, porém se estende para trás mantendo-se preso à borda de uma membrana ondulante que fica aderida ao longo de quase toda a extensão do corpo celular. Posteriormente o flagelo

prosegue além da membrana ondulante, de tal forma que sua extremidade se torna livre (Fig. 1 – apresentada apenas no CD).

O citoplasma contém estruturas tubulares ou feixes de fibras que nascem na região dos blefaroplastos que originaram os flagelos, nota-se entre elas uma faixa denominada costa que percorre as proximidades do flagelo recorrente. O axóstilo, outra dessas formações fibrilares, consiste em feixes longitudinais de microtúbulos e se origina em conjunção com uma estrutura de sustentação denominada pelta no pólo anterior. O axóstilo percorre toda a extensão do corpo celular e termina afilando-se abruptamente em um apêndice que faz saliência na extremidade posterior do organismo. Nessa saliência a membrana celular fica aplicada muito próxima aos microtúbulos do axóstilo.

As fibras parabasais se estendem pelo citoplasma acompanhadas por cisternas achatadas, densamente coradas, que consistem o aparelho de Golgi (Fig. 2 – apresentada apenas no CD).

A pelta se mostra relativamente pequena nos *Tritrichomonadinae*, trata-se de uma formação que garantiria sustentação citoesquelética à depressão do canal periflagelar. Apesar de pouco aparente e pequena em relação ao tamanho do organismo, há evidências por microscopia eletrônica de que a pelta está presente mesmo nesse grupo (Warton & Honigberg, 1979).

O núcleo celular é único e vesicular. Outras organelas vesiculares, em formas de grânulos e distribuídas ao longo da costa e do axóstilo se mostraram ser de grande importância. Todos os tricomonádídeos possuem tais organelas de dupla membrana, as quais são chamadas de hidrogenossomos (Fig. 2 – apresentada apenas no CD). Elas estão diretamente relacionadas com o metabolismo de  $H_2$  e contém ácido málico e ácido pirúvico, os quais em condições anaeróbicas levam à produção de hidrogênio molecular. Essas organelas são relacionadas quanto à sua origem com as mitocôndrias, já que exercem papel semelhante (Keeling, 1998). Contudo, a morfologia dos hidrogenossomos geralmente não lembra a da mitocôndria, eles parecem não conter um genoma interno, e ao invés da fosforilação oxidativa encontrada nas mitocôndrias, a energia é liberada nos hidrogenossomos pela conversão de piruvato ou malato em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio (Keeling, 1998).

As evidências indicam que os tricomonádídeos contam grandemente com o metabolismo anaeróbico para energia, justificando a importância dos hidrogenossomos.

Tratando-se de *Tritrichomonas muris*, a membrana ondulante consiste em duas partes distintas, uma proximal e outra distal. As secções transversais mostram uma pequena região desbotada nas colorações e que separa as duas partes, servindo de conexão entre elas (Fig. 3 – apresentada apenas no CD).

A parte proximal consiste em uma pequena diferenciação da superfície dorsal do citoplasma, aparecendo como uma formação relativamente elevada, porém achatada. Por sua vez, a parte distal da membrana ondulante pode ser separada em três áreas. Na primeira (P1) há uma forma triangular em corte transversal, que aponta para o corpo do organismo e que se cora densamente. Na segunda (P2) podemos notar túbulos distribuídos de forma pareada. Por fim, na terceira (P3), a parte mais distal da membrana consiste nos microtúbulos do flagelo recorrente (Daniel *et al.*, 1971) (Fig. 4 – apresentada apenas no CD).

Além do trofozoíto, podemos encontrar uma outra forma nesse parasito: o pseudocisto. Este não é um cisto verdadeiro por não possuir uma parede cística. Trata-se de uma forma oval ou arredondada, medindo cerca de 8-13  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Mattern *et al.*, 1980). Basicamente, os pseudocistos representam trofozoítos que internalizaram suas organelas locomotoras, incluindo os três flagelos anteriores, o flagelo recorrente e a membrana ondulante. Portanto, essa forma infectante é imóvel.

### **Ciclo de Vida:**

*Tritrichomonas muris* não apresenta um cisto real. Nas fezes do animal infectado é eliminada uma forma oval ou arredondada, imóvel, que não apresenta uma parede cística verdadeira. Essa forma, chamada de pseudocisto, deve ser ingerida pelo novo hospedeiro quando em contato com material fecal. O pseudocisto não apresenta muita resistência quanto à dessecação ou a altas temperaturas, já que não é protegido por uma parede cística.

Após a ingestão do pseudocisto, cuja dose infectante em camundongos atímicos é de apenas cinco pseudocistos, este se desenvolve em uma forma intermediária que posteriormente origina o trofozoíto.

O trofozoíto, por sua vez, é caracterizado por ser uma forma móvel que apresenta três flagelos livres e uma membrana ondulante com flagelo recorrente. A multiplicação se faz por divisão binária e o período pré-patente compreende de 3 a 10 dias (Waggie *et al.*, 1994).

#### **Patogenia/Patologia:**

A patogenicidade de *Tritrichomonas muris* não é bem conhecida, porém, normalmente é visto como não patogênico.

Apesar de ser freqüentemente encontrado em animais com diarreia, esse parasito não pode ser acusado de causar doenças entéricas. Deve aparecer em grande quantidade nessas ocasiões apenas por serem favorecidos em fluidos e semifluidos intestinais o seu crescimento e multiplicação.

#### **Controle:**

A eliminação da infecção de *Tritrichomonas muris* em camundongos pode ser feita administrando-se por 5 dias na água dos bebedouros uma solução de sucrose 1% contendo 2,5mg/ml de metronidazol. Os pseudocistos, por não apresentarem parede cística, são susceptíveis a dessecação e a altas temperaturas, porém, podem permanecer vivos por uma semana em ambientes úmidos a 18°C (Mattern & Daniel, 1980).

Assim como muitos outros, o parasito pode ser eliminado da colônia por derivação cesariana.

Devido as suas baixas doses infectantes pode fornecer um modelo de “biomarcadores” de contaminação em colônias de roedores livres de protozoários.

#### **Diagnóstico:**

O flagelado *Tritrichomonas muris* geralmente se encontra abundante nas fezes do animal infectado. Os trofozoítos móveis normalmente não se mostram presentes em amostras fecais, a não ser em casos onde as fezes se apresentam aquosas ou quando o animal está em quadro diarreico. Os pseudocistos sim aparecem em grande número, medindo cerca de 10 µm de diâmetro, com formato oval ou arredondado.

A suspensão de uma alíquota fecal pode ser incubada em 1 ml do meio TYI-S-33, permitindo a sobrevivência do parasito por uma semana e originando certo número de trofozoítos a partir dos pseudocistos (Mattern *et al.*, 1980).

O trofozoíto pode ser examinado à fresco em conteúdo cecal com nítida visualização da motilidade de sua membrana ondulante. A fixação pode ser feita utilizando o metanol ou álcool etílico, e uma boa coloração pode ser obtida com Giemsa.

A distinção de *T. muris* e outros parasitos que também habitam o intestino grosso de camundongos pode ser feita pela análise morfológica, levando em conta o tamanho, quantidade de flagelos e a presença de membrana ondulante.

#### **Interferência nas Pesquisas:**

*Tritrichomonas muris*, por tratar-se de um organismo não patogênico, não apresenta relatos de interferência em pesquisas.

#### 4.3.4 *Spiroucleus muris*

##### **Introdução:**

*Spiroucleus muris*, sinônimo *Hexamita muris*, é um protozoário flagelado habitante do intestino delgado e ceco de camundongos, ratos, hamsters e vários roedores silvestres.

Por muitos anos *S. muris* foi considerado um comensal nos intestinos dos roedores. Contudo, recentemente foi demonstrado que esse habitante da luz intestinal pode, sob certas circunstâncias, tornar-se patogênico, causando espiroucleose em camundongos de laboratório jovens ou imunodeficientes.

Sua prevalência em colônias convencionais de camundongos é geralmente muito elevada. Portanto, torna-se importante o uso de sistemas eficientes de barreira, os quais devem resultar na eliminação das infecções.

Assim como outros freqüentes endoparasitos de animais de laboratório, *S. muris* é responsável por interferir em diversas áreas da pesquisa biomédica.

##### **Taxonomia:**

O protozoário parasita *Spiroucleus muris*, sinônimo *Hexamita muris*, pertence ao Filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora.

Esse subfilo compreende duas classes: a classe Phytomastigophorea, onde estão agrupados os fitoflagelados que são quase sempre seres de vida livre, e a classe Zoomastigophorea que se divide em oito ordens.

*Spiroucleus muris* está contido na classe Zoomastigophorea, ordem Diplomonadida, subordem Diplomonadina, família Hexamitidae e subfamília Hexamitinae.

##### **Morfologia:**

Podem ser encontradas duas formas distintas do parasito *Spiroucleus muris*: um cisto resistente às condições do meio externo que irá infectar o novo hospedeiro; e um trofozoíto, a forma flagelada intestinal (Fig. 1 – apresentada apenas no CD)

O trofozoítos medem cerca de 12 a 25  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2,5  $\mu\text{m}$  de largura, possuem um formato alongado em forma de torpedo e apresentam simetria bilateral (Koudela *et al.*, 1996).

Dois blefaroplastos localizam-se entre dois núcleos anteriores e dão origem a quatro pares de flagelos, sendo três pares anteriores e um par posterior. Axonemas longitudinais também estão presentes.

O cisto mede cerca de 4  $\mu\text{m}$  de largura por 7  $\mu\text{m}$  de comprimento, apresentando formato elipsoidal (Januscha *et al.*, 1988).

#### **Ciclo de Vida:**

*Spiroucleus muris* apresenta um ciclo de vida direto, não apresentando um estágio de desenvolvimento fora do hospedeiro.

O cisto infectante e resistente é eliminado nas fezes e permanece no meio externo até ser ingerido pelo novo hospedeiro. Camundongos jovens e imunossuprimidos eliminam grandes números de cistos.

O processo de desencistamento que se segue à ingestão do cisto é rápido e similar ao apresentado para *Giardia muris*, o cisto não requer um período de maturação. O trofozoíto pode penetrar no epitélio e danificar as microvilosidades.

Segue-se o processo de encistamento onde o trofozoíto transforma-se em um cisto elipsoidal. Essa forma é eliminada nas fezes e reinicia o ciclo ao ser ingerida pelo novo hospedeiro. O período pré-patente é de 2 a 3 dias após a ingestão dos cistos.

#### **Patogenia/Patologia:**

O parasito *Spiroucleus muris* é freqüentemente encontrado em colônias de camundongos, ratos e hamsters (Whitehouse *et al.*, 1993). Contudo, os sinais clínicos da espiroucleose geralmente são pouco notados em indivíduos imunocompetentes e livres de outras patologias.

Animais jovens (2 a 6 semanas), submetidos a condições de estresse ou imunodeficientes são os mais afetados e podem desenvolver infecções de graves conseqüências.

Os indivíduos afetados podem exibir o pêlo eriçado, diarreia, desidratação, perda de peso, desatenção, postura recurvada, distensão abdominal, chegando até casos de mortes esporádicas. A necropsia pode revelar um acúmulo de muco na região anterior do intestino delgado, assim como gases e fluidos avermelhados devido à enterite. Pode também haver aumento dos linfonodos mesentéricos e até mesmo presença de edema pancreático e ascite (Wagner *et al.*, 1974).

A espiroucleose apresenta diferentes níveis de gravidade, dependendo da resistência do hospedeiro e da cepa do parasito, podendo se apresentar como uma doença aguda ou crônica (Brett & Cox, 1982).

Animais com uma doença aguda podem ter edema da lâmina própria com certa infiltração de neutrófilos. A degeneração das vilosidades epiteliais e a invasão da mucosa assim como da lâmina própria são geralmente associadas a eventos terminais.

Nos camundongos cronicamente afetados pode haver hiperplasia, aumento da atividade mitótica e aumento de linfócitos no epitélio do intestino delgado anterior e piloro, assim como distensão das criptas com resíduos inflamatórios (Whitehouse *et al.*, 1993).

Camundongos imunocompetentes são mais susceptíveis à infecção experimental entre 8 a 10 semanas de idade, enquanto que ratos são mais susceptíveis até 12 semanas de idade. Vale lembrar que animais atímicos são susceptíveis em qualquer idade (Brett & Cox, 1982).

### **Controle:**

A transmissão do parasito se faz através da ingestão dos cistos resistentes eliminados nas fezes dos animais infectados. Camundongos jovens podem ser infectados nas gaiolas dos pais e desenvolver o quadro clínico após passar por períodos de estresse, como o desmame. Provavelmente a dose infectante é de apenas um cisto.

A prevenção se baseia na utilização de métodos de desinfecção e esterilização eficientes, implantação de sistemas de barreiras sanitárias, técnicas de manejo adequadas, assim como quarentena para animais recém chegados.

Durante o manejo é importante lembrar que a transmissão de *Spiroucleus* pode ocorrer entre diferentes espécies, como camundongos, ratos, hamsters e outros roedores.

Os cistos infectantes são sensíveis a altas temperaturas e devem ser eliminados a 45°C por 30 minutos. Contudo, são resistentes à dessecação, ao congelamento (-20°C) e ao baixo pH. Sobrevivem também ao glutaraldeído 0,1% por 1 hora (Kunstyr & Ammerpohl, 1978).

O tratamento de camundongos com sinais clínicos da espiro nucleose pode ser feito com dimetridazol 0,04-0,1% administrado nas água dos bebedouros por 14 dias, contudo esse tratamento não elimina os parasitos dos animais infectados (Waggie *et al.*, 1994).

Como forma de eliminar as infecções deve haver o estabelecimento de colônias mantidas por derivação cesariana.

#### **Diagnóstico:**

O método de diagnóstico para *Spironucleus muris* consiste na procura de trofozoítos no lúmen intestinal ou nas criptas de Lieberkühn do intestino delgado anterior ou piloro.

O exame microscópico de secções do intestino delgado anterior irão revelar massas granulosas de trofozoítos no lúmen, entre as vilosidades e nas criptas de Lieberkühn que estarão distendidas. A coloração pode ser feita com hematoxilina e eosina. Coloração por PAS também pode ser útil no exame histopatológico.

A busca de cistos no conteúdo do intestino grosso ou nas fezes dos animais pode ser uma alternativa para o diagnóstico da espiro nucleose. Contudo, devido ao padrão intermitente de eliminação de cistos e ao declínio no número de cistos eliminados de acordo com a idade do animal, esse método de diagnóstico pode trazer resultados não confiáveis. Os cistos não corados aparecem com aspecto escuro, elipsoidal e medem cerca de 4 por 7 µm (Januscha *et al.*, 1988).

Caso seja feita a necropsia do animal convém examinar o conteúdo intestinal a fresco. Os trofozoítos de *S. muris* podem ser distinguidos dos outros protozoários pelo seu pequeno tamanho, ausência de qualquer membrana ondulante, e por seu movimento característico que é rápido e retilíneo.

**Interferência nas Pesquisas:**

A infecção por *Spiroucleus muris* é importante fonte de interferência em resultados experimentais principalmente quando se utilizam animais imunodeficientes. Além de aumentar a mortalidade e diminuir a expectativa de vida em animais atímicos, pode aumentar a mortalidade em animais tratados com Cadmium (Exon *et al.*, 1975), alterar a atividade de macrófagos, reduzir a resposta de linfócitos à mitógenos como: Concavalina A e Phitohemaglutinina (Sebesteny, 1974) e alterar a resposta ao toxoíde tetânico em camundongos (Mullink *et al.*, 1980).

A resposta imunológica dos animais infectados fica comprometida para uma ampla gama de antígenos quando comparada a de animais não infectados, tornando-os inadequados para estudos de imunologia.

Infecções concomitantes com *Babesia microti*, *Plasmodium yoelli* ou *Plasmodium berghei* diminuem o número de cistos e trofozoítos de *Spiroucleus muris* (Brett & Cox, 1982b).

#### 4.3.5 *Syphacia obvelata*

##### **Introdução:**

Os nematódeos formam um grupo de animais conhecidos por mais de três mil anos na história da humanidade. Isso se deve ao fato de que, apesar da grande maioria compreender espécies de vida livre, as espécies parasitas são encontradas em quase todas as plantas e em quase todos os animais examinados, conferindo a esse grupo grande importância econômica, médica, e veterinária (Crofton, 1966).

Uma das primeiras referências a nematódeos de interesse especificamente veterinário foi feita por Hipócrates (400 A.C.). Ele escreveu sobre cavalos que continham vermes, os quais sabemos hoje que são *Oxyuris equi*.

Dezenas de centenas de anos se passaram, mas a preocupação com esses parasitos se mantém até hoje.

Colônias convencionais de animais de laboratório não escapam a esse tipo de ataque, sendo *Syphacia obvelata*, juntamente com *Aspiculuris tetraptera*, os nematóides mais comuns encontrados em camundongos.

*Syphacia obvelata* também é comum no hamster de laboratório, no camundongo doméstico e no silvestre. O macaco e o homem são susceptíveis a esse nematóide, havendo relatos de infecções naturais.

Todas as colônias convencionais de camundongos provavelmente estão infectadas com esse oxiurídeo, e até mesmo algumas mantidas por derivação cesariana.

Desse modo, torna-se justificável o exame minucioso da biologia de *Syphacia obvelata*.

##### **Taxonomia:**

*Syphacia obvelata* pertence ao Filo Nematoda, que reúne animais com o corpo cilíndrico não segmentado, esôfago altamente diferenciado, sistemas respiratório e circulatório ausentes.

Os nematódeos em sua maioria são seres de vida livre, porém há um número muito grande de formas parasitas, infectando tanto humanos como animais e plantas. Este compreende o maior grupo de helmintos parasitas de animais de laboratório endotérmicos.

Geralmente são divididos em duas classes e onze ordens. *Syphacia* está incluída na Classe Secernentea, Ordem Ascaridida, Superfamília Oxyuroidea, Família Oxyuridae e Subfamília Syphaciinae.

As espécies do gênero *Syphacia* podem ser distribuídas em dez grupos menores de acordo com suas similaridades morfológicas e suas estruturas cefálicas. Além de *Syphacia obvelata*, que ocorrem principalmente em camundongos, podemos encontrar as espécies *S. muris*, predominantemente em ratos, e *S. mesocriceti*, em hamsters.

### **Morfologia:**

*Syphacia obvelata* é um verme filiforme e esbranquiçado. Os sexos são separados, havendo dimorfismo sexual. As fêmeas são maiores medindo entre 3,4 a 5,8 mm de comprimento por 240 a 400  $\mu\text{m}$  de largura. Os machos medem entre 1,1 a 1,5 mm de comprimento por 120 a 140  $\mu\text{m}$  de largura (Waggie *et al.*, 1994) (Fig. 1 – apresentada apenas no CD).

O contorno do platô cefálico é oval e regular. A região peribucal é constituída por três lábios, que no caso de *Syphacia obvelata* não são delimitados. A máscara facial é delimitada lateralmente por quatro porções da cutícula ovais e finas, que contem órgãos sensoriais como as papilas cefálicas e algumas das papilas labiais externas. Duas dessas estruturas localizam-se no lábio dorsal e são chamadas papilas dorsais, já nos lábios subventrais ocorre uma em cada um deles, por sua vez recebendo o nome de papilas ventrais (Quentin, 1971) (Fig. 2 - apresentada apenas no CD).

Lateralmente encontramos duas aberturas dos anfideos. Trata-se de órgãos sensoriais presentes em todos os nematóides, porém geralmente mais desenvolvidos nas espécies marinhas quando comparados com as terrestres e parasitas (Crofton, 1966).

A boca, envolvida por três estruturas labiais, não apresenta uma cápsula bucal (Fig. 3 - apresentada apenas no CD).

Na região anterior desse nematóide é possível notar uma projeção cuticular lateral, a asa cefálica.

O esôfago dilata-se levemente na região média prebulbar. Enquanto que na região posterior do mesmo há uma dilatação muito mais evidente que forma o proeminente

bulbo muscular, com um sistema de válvulas que lhe permite funcionar como uma bomba peristáltica (Fig. 4 - apresentada apenas no CD).

Nos machos encontramos três projeções cuticulares ou “mamelões”. O mamelão central localiza-se próximo à região central do corpo do parasito (Fig. 5 - apresentada apenas no CD). A cauda é recurvada ventralmente e o seu comprimento é aproximadamente igual à largura do corpo.

Ainda no macho, como órgão acessório da cópula, há um único espículo, delgado e longo que pode ser projetado para fora ou retraído para o interior de um divertículo da cloaca, a bolsa do espículo. Sua função é a de estender a vulva para permitir a entrada do esperma (Quentin, 1971).

Um espessamento cuticular da parede dorsal da bolsa espicular gera uma estrutura denominada gubernaculum. O gubernaculum funciona como um guia para o espículo, esse possui um sulco que irá orientar o movimento espicular de projeção e retração (Fig. 6 - apresentada apenas no CD).

Na fêmea o útero ocupa grande extensão no interior do parasito e a vulva fica no sexto anterior do corpo, atrás do poro excretor (Fig. 7 - apresentada apenas no CD). A cauda é longa e afinada e não fica recurvada como a do macho.

Os ovos são elipsoidais, alongados e achatados em um dos lados. Medem cerca de 118 a 153  $\mu\text{m}$  de comprimento por 33 a 55  $\mu\text{m}$  de largura (Wharton, 1979). A casca do ovo é mais grossa em seu lado curvo do que em seu lado achatado (Fig. 8 - apresentada apenas no CD).

#### **Ciclo de Vida:**

O ciclo de vida de *Syphacia obvelata* é direto, com período pré-patente de 11 a 15 dias (Flynn, 1973).

Após a fertilização, o macho morre e é eliminado com as fezes. As fêmeas grávidas (Fig.1 – apresentada apenas no CD) migram do intestino para o reto, atravessam ativamente o ânus do hospedeiro, depositam os ovos na pele da região perianal e morrem logo depois. Os ovos irão embrionar e se tornam infectantes em poucas horas (Lewis & D’Silva, 1986).

A infecção pode ocorrer pela ingestão dos ovos embrionados diretamente da região perianal do animal infectado, pela ingestão de água ou comida contaminada com os ovos embrionados ou por meio da retro-infecção, onde os ovos se rompem ainda na região perianal e as larvas migram de volta ao reto através do ânus.

As larvas no intestino irão se alimentar, crescer e se transformar em vermes adultos, tornando-se maduras sexualmente depois de 4 a 7 dias (Taffs, 1976).

### **Patogenia/Patologia:**

*Syphacia obvelata* é comensal, relativamente não patogênica, ocorre no ceco, e em menor extensão, no cólon de camundongos. Ocasionalmente pode ser encontrada em ratos, hamsters e cobaias.

A infecção é normalmente assintomática, porém pode afetar o ganho de peso e a taxa de crescimento do animal. Apesar de lesões entéricas não serem atribuídas a esse parasito, algumas desordens intestinais como intussuscepção, prolapso retal e constipação, podem ocorrer em infecções maciças.

Sinais clínicos não são evidentes, mas pêlo eriçado, baixa atividade, pouco crescimento, diarreias ocasionais e automutilação na base da cauda, podem ser indicações de infecção por *S. obvelata* (Flynn, 1973).

A prevalência deve estar ligada a aspectos como sexo, status imunológico e idade do hospedeiro. Algumas linhagens de camundongos são mais susceptíveis como DBA/2 e RF, enquanto outras, como a linhagem C3H, se mostram mais resistentes (Gonçalvez *et al.*, 1998).

*Syphacia obvelata* pode algumas vezes infectar o homem. Apesar de a infecção natural ser incomum, pessoas que trabalham com animais de laboratório devem estar cientes dessa possibilidade e manusear os animais infectados com cautela.

### **Controle:**

O controle de *Syphacia obvelata* deve ser feito adotando-se técnicas adequadas de higiene, manejo da colônia, métodos de descontaminação e esterilização dos materiais, implantação de sistemas de barreira e quarentena.

A eliminação desse nematódeo é muito difícil. Frequentemente aparecem em colônias com sistemas de barreira, sugerindo que os ovos sobrevivem ao ácido peracético 2% e mesmo a descontaminação com vapor de formaldeído (Van der Guden & Van Erp, 1972). A técnica de derivação cesariana pode ser eficiente, porém a reinfecção é muito comum.

Os ovos facilmente ficam em aerossol, se dispersam na poeira e podem contaminar os equipamentos e ductos de ventilação, além de permanecerem depositados na pele e pêlo da região perianal dos animais infectados. Com isso, a limpeza frequente de gaiolas por si só tem pouco efeito quanto a impedir a reinfecção.

O primeiro passo para evitar a propagação de nematódeos pela colônia é fazer uma subdivisão de áreas e as isolar. Esse isolamento refere-se a um controle do fluxo de pessoas e equipamentos entre as salas. Com isso consegue-se limitar a dispersão imediata de ovos pela população. Quando possível deve-se reorientar o tráfego de forma a colocar as salas afetadas por último. Qualquer pessoa que precisar entrar em múltiplas salas deve passar pelas salas positivas para o parasito apenas após ter terminado seu serviço nas outras salas. As pessoas e equipamentos que deixarem a sala contaminada devem entrar em uma área ou corredor considerado “sujo”. Todo o tráfego desnecessário deve ser eliminado.

Além da limpeza e esterilização das gaiolas e da sala, é necessária a utilização de filtros de ar e isoladores para manter os animais livres da contaminação do ambiente. Acompanhando essas medidas deve ser mantida a derivação cesariana e para os animais infectados o tratamento com anti-helmínticos.

Muitos anti-helmínticos são sensíveis ao calor, enquanto outros se mostram estáveis, dessa forma deve-se atentar para esse fato se forem misturados na comida antes da autoclavagem.

O tratamento repetitivo é necessário, sendo o intervalo entre os tratamentos subseqüentes menor do que o período pré-patente do parasito. Torna-se mais eficiente se toda a área ou sala for tratada de uma só vez.

Algumas drogas utilizadas são: Ivermectina, Piperazina, Mebendazol, Pamoato de Pirvínio, Trichlorfon, Dichlorvos e Thiabendazol (Waggie *et al.*, 1994).

**Diagnóstico:**

A identificação de *Syphacia obvelata* é baseada na demonstração de ovos na região perianal, o que pode ser conseguido pela técnica de swab-anal com fita gomada, que é rápida e eficiente. Pode-se também fazer a procura por vermes adultos no ceco durante a necropsia. Esse é o método mais sensível de detecção, porém também o mais trabalhoso.

A procura de ovos nas fezes pode ser uma alternativa, mas não é tão eficiente para *Syphacia obvelata* como as duas primeiras técnicas, além de exigir um tempo maior de processamento.

Testes de rotina com swab-anal e exame por necropsia pode ser a combinação mais eficiente para detecção desse nematóide em colônias de camundongos.

**Interferência na Pesquisa:**

Os roedores infectados por nematódeos tendem a pesar menos que os não infectados, tornando-os inutilizáveis para estudos que requerem medidas de peso corpóreo ou de peso de órgãos como porcentagem do peso corpóreo.

A migração das fêmeas para o ânus provoca irritação nos animais afetados, provocando coceira excessiva e muitas vezes levando o animal a automutilação. Isso pode mantê-los muito ocupados ou desinteressados para certos estudos comportamentais.

Animais parasitados por *Syphacia obvelata* também não são recomendados para estudos nutricionais, imunológicos ou hematológicos devido às modificações causadas nos parâmetros fisiológicos normais (Taffs, 1976).

Apesar de esses parasitos, quando em pequeno número, não provocarem efeitos clínicos evidentes, devemos lembrar que os animais têm sua resistência diminuída sob condições experimentais.

Os nematódeos trazem outras complicações na medida em que podem transmitir, provocar, ou facilitar doenças bacterianas e virais. Ao mesmo tempo também podem afetar o crescimento de tumores e as respostas humorais (Taffs, 1976).

#### 4.3.6 *Myocoptes musculus*

##### **Introdução:**

A acarologia tem se mostrado de grande importância em várias áreas de interesse humano. A saúde, a agricultura, o armazenamento de grãos, o controle biológico e a veterinária, são alguns dos exemplos onde a influência de certos ácaros pode exercer um papel considerável.

Os animais de laboratório não estão imunes ao ataque de ácaros, e *Myocoptes musculus* é um ectoparasito muito comum em camundongos. Colônias convencionais de camundongos são frequentemente infestadas, o que pode interferir no resultado de pesquisas biológicas.

O técnico em bioterismo deve estar atento à prevenção e controle das infestações, conhecer a biologia desse ectoparasito para assim adotar as técnicas de manejo adequadas e reconhecer o animal afetado.

O aumento da susceptibilidade ao estresse experimental e a indução de lesões cutâneas e teciduais são os principais fatores danosos, muitas vezes inutilizando o animal que seria usado em pesquisas.

##### **Taxonomia:**

Os ácaros em geral pertencem ao Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari.

A classificação de Woolley (1988) divide a subclasse Acari em duas coortes, Parasitiformes e Acariformes. Parasitiformes contém quatro ordens, Opilioacarida (Nostostigmata), Holothyrida (Tetrastigmata), Gamasida (Mesostigmata) e Ixodida (Metastigmata). Por sua vez, os Acariformes compreendem três ordens, Actinedida (Prostigmata), Acaridida (Astigmata) e Oribatida (Cryptostigmata).

Os Astigmatas são acarinos onde os estigmas estão ausentes, podendo eventualmente apresentar sistema traqueal que se exterioriza através de áreas porosas em várias regiões do corpo. Este grupo compreende mais de 30 famílias.

*Myocoptes musculus* é um Acariforme pertencente à ordem Astigmata, superfamília Psoroptoidea e à família Listrophoridae.

A superfamília Psoroptoidea abrange ácaros parasitas da pele, pêlos, folículos pilosos, trato respiratório e tecidos subcutâneos de mamíferos. Enquanto a família Listrophoridae agrupa os parasitos que infestam comumente a pelagem dos mamíferos (Woolley, 1988).

### **Morfologia:**

Os adultos do ácaro *Myocoptes musculus* apresentam dimorfismo sexual bem evidente (Fig. 1 – apresentada apenas no CD).

A fêmea apresenta coloração esbranquiçada, formato oval e alongado, medindo cerca de 300  $\mu\text{m}$  de comprimento por 130  $\mu\text{m}$  de largura (Fig. 2 – apresentada apenas no CD). O corpo é estriado e ventralmente aparecem projeções diminutas em forma de espinho entre as estriações. A abertura genital é triangular, porém, quando fechada toma a forma de uma fenda transversal localizada entre o quarto par de pernas. A abertura anal fica na região posterior e ventral, próxima a um par de longas cerdas terminais. O primeiro e segundo pares de pernas possuem seis segmentos, sendo o pretarso curto e pedunculado portando em sua extremidade distal um aparato que deve ter se originado a partir de cerdas modificadas e que funciona como ventosas ambulacrais. O terceiro e quarto pares de pernas são altamente modificados para a finalidade de agarrar o pêlo do hospedeiro, servindo como eficientes órgãos de fixação (Matsuzaki, 1966) (Fig. 3 – apresentada apenas no CD).

O macho é mais esclerotizado, menos estriado e menor que a fêmea, medindo cerca de 190  $\mu\text{m}$  por 135  $\mu\text{m}$ . Como na fêmea, tem os dois primeiros pares de pernas com pretarsos curtos e o terceiro modificado em órgão de fixação. Diferentemente, o quarto par, é muito aumentado, com cinco segmentos, não apresenta modificação alguma para fixação e termina em projeções semelhantes a garras (Fig. 4 – apresentada apenas no CD). A região posterior do idiossoma é bilobada, apresentando duas longas e duas curtas cerdas terminais (Fig. 5 – apresentada apenas no CD). O ânus é acompanhado por um par de pequenas ventosas adanais (Matsuzaki, 1966).

**Ciclo de Vida:**

O ciclo de vida de *Myocoptes musculus* compreende o ovo, larva, duas ninfas e o adulto. Os ovos são colados no pêlo do hospedeiro (Fig. 1 – apresentada apenas no CD) e sua eclosão liberta a larva hexápoda que irá se transformar em uma ninfa octópoda. Esta, por sua vez, sofrerá mudança ecdisial para originar a segunda ninfa octópoda. As ninfas se assemelham às fêmeas adultas, porém são menores e mais arredondadas. O ciclo se completa em torno de duas semanas (Watson, 1960).

Ao invés de ficar na pele, o adulto de *M. musculus* passa todo o tempo preso na pelagem do hospedeiro e pode ser encontrado em todas as partes do corpo. Eventualmente desce até a base do pêlo onde se alimentará no tecido epidérmico (Fig. 2 – apresentada apenas no CD).

**Patogenia/Patologia:**

Os sintomas provocados por infestações de *M. musculus* freqüentemente não são aparentes, contudo, quando há grande quantidade do ácaro os sinais clínicos aparecem.

Os animais com infestações maciças apresentam queda de pêlo e eritema nas regiões do pescoço, ombro e no dorso (Needham, 1978). Prurido e dermatites podem ocorrer, especialmente na pele do abdômen. A presença de grandes números de ácaros torna a pelagem acinzentada e sem brilho, causa enfraquecimento dos pêlos, vermelhidão da pele e alguma irritação pode resultar em sangramento superficial (Flynn, 1973).

A área afetada pode aumentar progressivamente, o animal perde peso e se torna cada vez mais debilitado. Em alguns casos observa-se hiperqueratose severa e dermatite ulcerativa. Normalmente a dermatite causada por *Myocoptes musculus* é mais branda em comparação à causada por *Myobia muscili* (Waggie *et al.*, 1994).

A transmissão ocorre por contato direto entre os animais ou mesmo através das mãos e vestuário do manipulador. Há evidências de que os filhotes adquirem a infestação a partir do adulto durante a amamentação (Watson, 1961).

Certo cuidado deve ser tomado para distinguir *Myocoptes musculus* de outros ectoparasitos também comuns em animais de laboratório como *Myobia musculi*, *Radfordia affinis* e *Trichoecius romboutsii*. Os dois primeiros, diferentemente de *M. musculus*, apresentam apenas o primeiro par de pernas modificadas para fixação.

*Myocoptes musculus* é maior que *Trichoecius romboutsii*, a fêmea é mais larga e o macho possui duas cerdas terminais longas e duas curtas ao invés de quatro cerdas terminais longas como em *T. romboutsii*.

#### **Interferência nas Pesquisas:**

No caso de ectoparasitos a interferência em pesquisas ocorre mediante o aumento na susceptibilidade ao estresse experimental e na indução de lesões cutâneas e teciduais. Isso leva a uma alteração da resistência do animal.

Conseqüentemente, animais com infestações por ácaros não são recomendados para estudos comportamentais, pois o mesmo pode manter-se alterado.

#### 4.3.7 *Myobia musculi*

##### **Introdução:**

*Myobia musculi* é um ácaro muito comum em camundongos, ratos e outros mamíferos. Encontrado em animais de laboratório, torna-se uma preocupação constante aos pesquisadores que buscam manter populações uniformes de animais para o desenvolvimento de seu experimento.

Uma análise da presença de ectoparasitos em biotérios brasileiros revelou que este ácaro ocorre em 26,6% das colônias de camundongos investigadas. Essa porcentagem a coloca entre os três ácaros mais freqüentes encontrados em camundongos de laboratório, ficando a frente de *Radfordia ensifera*, encontrado em 13,3% dos biotérios brasileiros investigados, e perdendo apenas para *Myocoptes musculinus*, cuja ocorrência em colônias de camundongos nos biotérios brasileiros é de 46,6% (Gilioli, 2003).

Sabidamente ectoparasitos são responsáveis por interferirem em pesquisas biológicas. Torna-se necessário ao pesquisador, portanto, conhecer a biologia de patógenos tais como *Myobia musculi*.

##### **Taxonomia:**

Os ácaros estão contidos no Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari.

A classificação de Woolley (1988) divide a subclasse Acari em duas coortes, Parasitiformes e Acariformes. Parasitiformes contém quatro ordens, Opilioacarida (Nostostigmata), Holothyrida (Tetrastigmata), Gamasida (Mesostigmata) e Ixodida (Metastigmata). Por sua vez, os Acariformes compreendem três ordens, Actinedida (Prostigmata), Acaridida (Astigmata) e Oribatida (Cryptostigmata).

*Myobia musculi* pertence à Ordem Actinedida e à família Myobiidae, que também contém ectoparasitos de aves, marsupiais, morcegos e outros mamíferos (Baker *et al.*, 1967).

A maior diversidade biológica dentro dos Acariformes provavelmente ocorre nessa ordem. Grandes variações morfológicas, decorrentes de adaptações para hábitos muito diversos, irão ocorrer neste grupo de ácaros. A heterogeneidade e complexidade de

tal ordem dificultam a classificação, a qual, ao invés de se deter na verificação da presença de estruturas específicas, irá se basear com mais frequência na ausência de certos caracteres (Woolley, 1988).

### **Morfologia:**

O macho e a fêmea de *Myobia musculi* diferem no tamanho, distribuição das cerdas e genitália. Ambos são pequenos, com a fêmea adulta medindo cerca de 400-500 µm de comprimento enquanto o macho cerca de 280-320 µm (Waggie *et al.*, 1994). O corpo é alongado, não esclerotizado e estriado transversalmente (Fig. 1 – apresentada apenas no CD). Lateralmente as margens do idiossoma formam protuberâncias entre cada par de pernas (Fig. 2 – apresentada apenas no CD).

O gnatossoma em *M. musculi* é pequeno, possui palpos simples e consiste essencialmente de uma cápsula esclerotizada contendo as quelíceras, o labro e um mecanismo de sucção promovido pela faringe. Essas três estruturas funcionam de forma coordenada durante o processo de alimentação. Nos machos, preparações histológicas revelam uma degeneração do gnatossoma e dos órgãos digestivos quando comparados aos da fêmea. Dessa forma o macho presumivelmente não deve se alimentar, tendo apenas função reprodutiva (Paran, 1982).

O primeiro par de pernas nos adultos é curto, achatado e altamente adaptado para agarrar um pêlo do hospedeiro (Fig. 3 – apresentada apenas no CD). Os outros três pares de pernas não são tão modificados, não possuem garras verdadeiras, porém terminam em uma estrutura semelhante à uma garra, a garra empodial (Fig. 4 – apresentada apenas no CD).

A abertura anal é dorsal. Nas fêmeas o órgão genital consiste em uma abertura posterior e dorsal (Fig. 5 – apresentada apenas no CD) enquanto no macho um aedeagus longo, interno e dorsal está presente. Ainda na região dorsal dos adultos encontra-se uma série de cerdas grandes e robustas.

Os ovos medem cerca de 150-200 µm de comprimento e são colados nas bases dos pêlos do hospedeiro (Waggie *et al.*, 1994) (Fig. 6 – apresentada apenas no CD).

### **Ciclo de Vida:**

O ciclo de vida de *Myobia musculi* compreende o ovo, o primeiro e o segundo estágio larval, a protoninfa, a deutoninfa e a forma adulta. O ciclo se completa em 23 dias. O período larval dura aproximadamente 10 dias, enquanto a forma de ninfa se mantém por 5 dias. Atingido o estado adulto, estes são capazes de produzir ovos férteis em 24 horas. Os ovos ficam colados junto às bases dos pêlos e irão eclodir após 7 dias (Friedman & Weisbroth, 1977) (Fig. 1 – apresentada apenas no CD).

O ácaro se alimenta na pele do hospedeiro, próximo a base dos pêlos. Durante esse processo, o estilete é projetado para fora e perfura a pele do animal. O fluido extracelular do hospedeiro ascende um pouco dentro do tubo do estilete por capilaridade. Segue-se uma contração dos músculos do labro que irá abrir a abertura oral. Esse processo é imediatamente seguido pela contração dos músculos da bomba faringiana e o líquido é sugado para dentro da faringe (Paran, 1982).

### **Patogenia/Patologia:**

Os efeitos patogênicos de *Myobia musculi* em seu hospedeiro são variáveis até dentro de uma mesma colônia. Geralmente as infestações são leves e não provocam sinais aparentes. O ácaro pode ingerir quantidades significativas de fluido intersticial do hospedeiro sem causar qualquer dano visível.

As infestações severas de *Myobia musculi* podem produzir efeitos sistêmicos e locais no hospedeiro. Esses efeitos incluem dermatite, alopecia, prurido, auto-injúria e em alguns casos o aparecimento de lesões ulcerativas com infecções bacterianas secundárias (Waggie *et al.*, 1994).

Os linfonodos que drenam a área lesionada geralmente apresentam hiperplasia e canais sinusoidais proeminentes ao redor dos folículos primários. Os baços dos animais afetados também podem se tornar aumentados, microscopicamente apresentando hiperatividade com acréscimo no número de elementos linfóides (Weisbroth *et al.*, 1976).

O aumento da atividade mitótica do epitélio dérmico também é observado em algumas infestações, assim como a perda de peso do animal (Galton, 1963).

Indivíduos curados submetidos a reinfestação retornam a apresentar lesões ulcerativas abertas em apenas dois ou três dias. Em contraste, geralmente é necessário

tempo considerável para uma infestação inicial progredir até a formação de tais lesões. Isso sugere que a formação das lesões ulcerativas é provavelmente de caráter alérgico(Weisbroth *et al.*, 1976).

A transmissão dos ácaros ocorre por contato direto entre os animais ou através das mãos e vestuário do manipulador.

### **Controle:**

O controle de *Myobia musculi* pode seguir os métodos recomendados para *Myocoptes musculinus*.

Geralmente utilizam-se acaricidas em banhos de imersão, aplicados sobre a cama do animal ou adicionados à água dos bebedouros. Como *M. musculi* se alimenta de fluidos intersticiais, a aplicação sistêmica de inseticidas também traz bom resultado. Se a colônia é fechada, sem a introdução contínua de novos animais infestados, o problema é relativamente simples. O tratamento deve ser feito em todas as gaiolas ao mesmo tempo em dois momentos diferentes. Como geralmente os acaricidas não irão eliminar os ovos, um segundo tratamento deve ser feito para eliminar os indivíduos que eclodiram. Este deve ocorrer após pelo menos sete dias do primeiro tratamento, porém não é adequado esperar mais que quinze dias, nesse caso novos ovos poderão ser depositados.

Com a cura e conversão para um “status” não lesionado, irá cessar o hábito do animal coçar compulsivamente as áreas afetadas, a superfície ulcerada secará ocorrendo a redução gradual a partir de sua periferia, ocorrerá formação de cicatriz e um crescimento de pêlos nas zonas marginais geralmente suficiente para cobrir a cicatriz formada. Esses eventos normalmente se completam no período de duas semanas. Caso o animal sofra reinfestação por *M. musculi* a coceira compulsiva recomeça logo após o primeiro dia de reinfestação e as áreas curadas voltam ao estado lesionado anterior em três dias (Weisbroth *et al.*, 1976).

A completa erradicação da infestação pode ser atingida com a utilização de técnicas de derivação cesariana ou histerectomia.

**Diagnóstico:**

O diagnóstico é baseado na identificação do ácaro no pêlo e pele do hospedeiro. Métodos semelhantes aos apresentados para *Myocoptes musculinus* podem ser utilizados.

Pode-se visualizar *Myobia musculi* a partir de observações diretas das carcaças dos animais, sob microscópio estereoscópico, e a partir de exame microscópico de pêlos coletados da região cervical e dorsal, clarificados pelo líquido de Hoyer.

Durante a identificação das espécies é preciso distinguir o ácaro *Myobia musculi* de outros ectoparasitos que aparecem em camundongos e que são muito semelhantes a esse, os do gênero *Radfordia*. Para tal procure verificar as estruturas semelhantes a garras do segundo par de pernas. *Myobia* possui uma garra empodial única em cada perna enquanto que *Radfordia* possui duas dessas garras terminais em cada perna do segundo par.

**Interferência nas Pesquisas:**

A interferência em pesquisas pode ocorrer devido ao aparecimento de lesões cutâneas que trazem prurido afetando o comportamento do animal, muitas vezes elevando a susceptibilidade ao estresse experimental.

#### 4.4 A Avaliação

Os resultados obtidos pelo questionário aplicado aos usuários do software estão apresentados nos gráficos que se seguem.

As assertivas que foram avaliadas na primeira parte do questionário são as seguintes:

1. O software apresenta fácil acesso às informações.
2. Os desenhos ilustram bem o parasito estudado.
3. As animações agilizam o entendimento da morfologia do parasito.
4. Tendo em mente a produção gráfica apresentada, poderei identificar mais facilmente o parasito em situações reais.
5. O som das animações está adequado.
6. Gostaria de possuir esse software para estudar em outros períodos de acordo com a minha disponibilidade e interesse.
7. Os professores deveriam utilizar esse tipo de animações gráficas em suas aulas.
8. Preciso ter um conhecimento prévio do assunto para entender as animações.
9. O ambiente de navegação do software é adequado.
10. A velocidade do computador que utilizei está adequada à execução do software.

Enquanto que as alternativas oferecidas foram:

- CT – Concordo Totalmente
- C – Concordo
- NA – Não concordo nem discordo
- D – Discordo
- DT – Discordo Totalmente

Gráfico 1 – Porcentagem de alternativas escolhidas pelos usuários para as respectivas assertivas avaliadas.

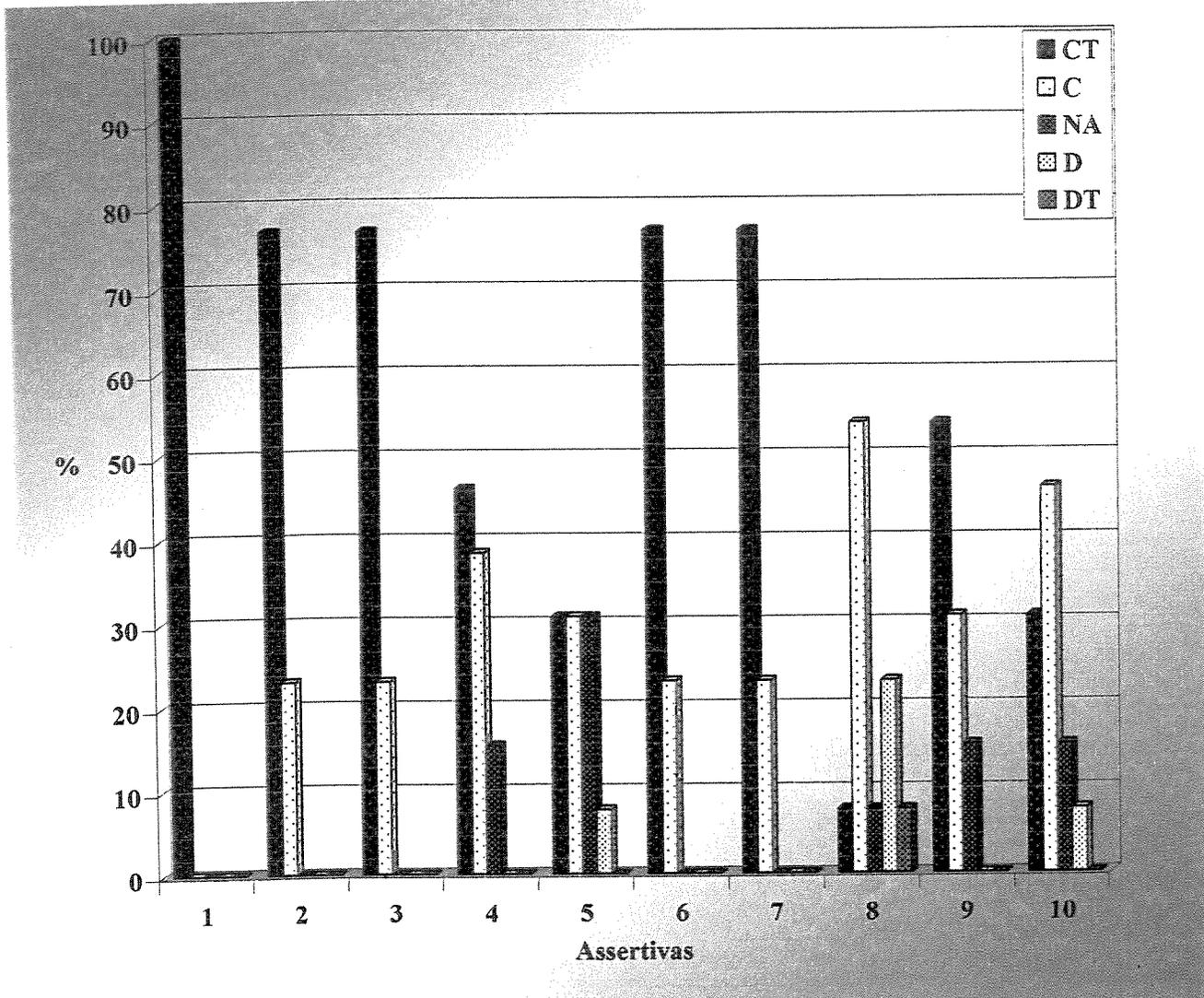
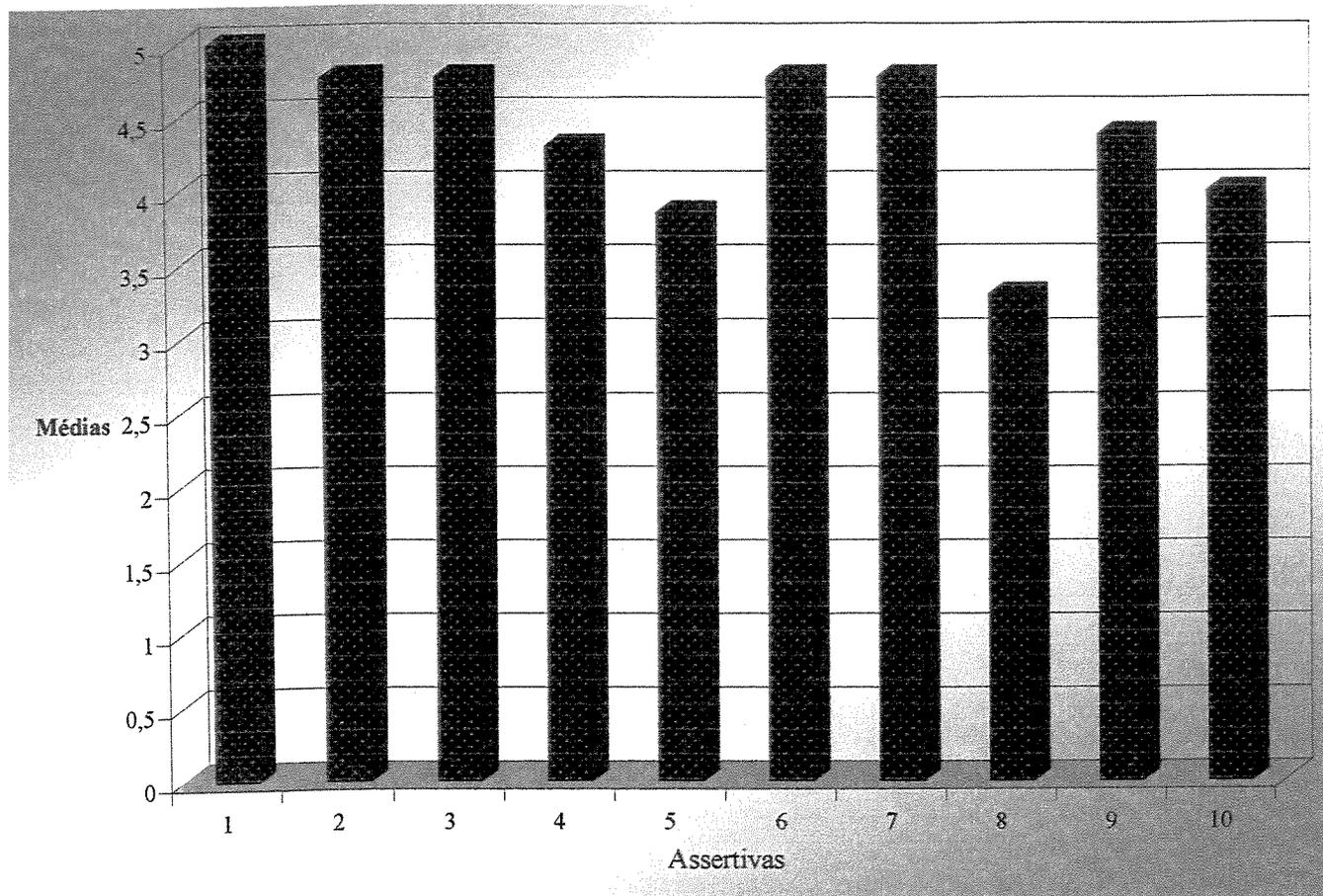


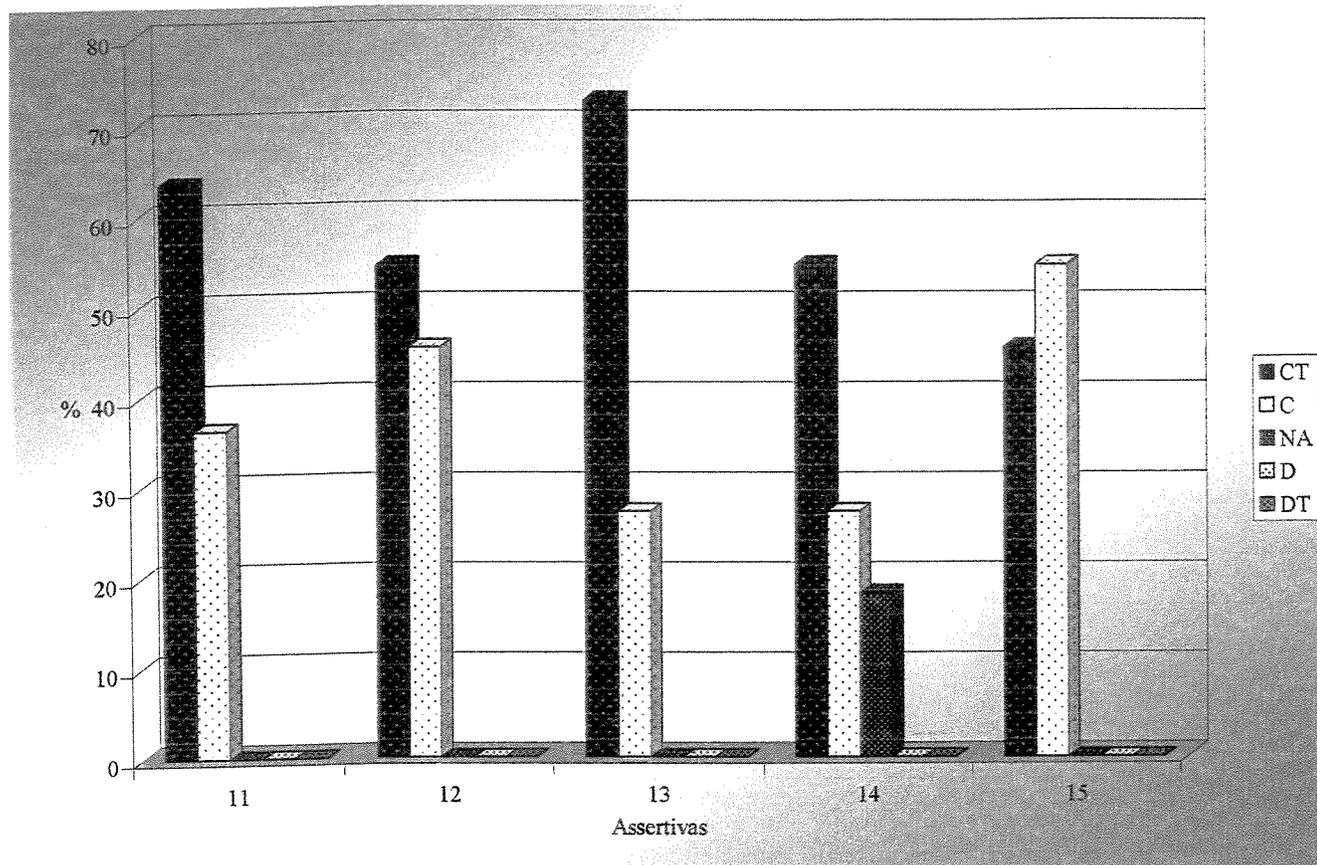
Gráfico 2 – Médias dos atributos para as respectivas assertivas, a partir de uma tabulação ponderada da escala de Likert.



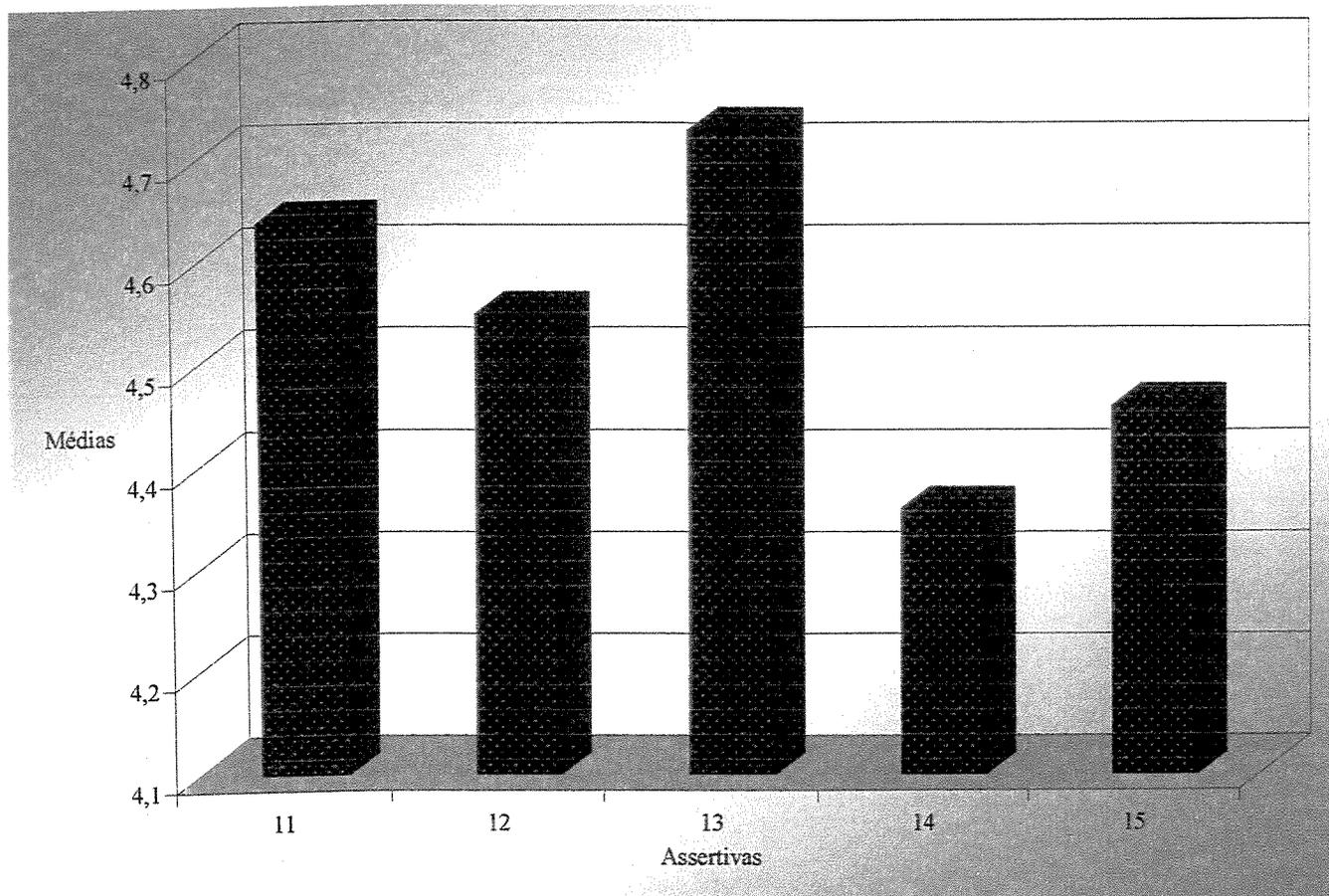
As assertivas avaliadas na segunda parte do questionário foram:

11. O texto possui informações importantes para consulta.
12. Os tópicos abordados abrangem adequadamente cada parasito.
13. A produção gráfica ilustra bem a realidade de cada organismo.
14. A utilização do software não precisa ser específica para a área de animais de laboratório.
15. Os parasitos a serem abordados foram bem escolhidos.

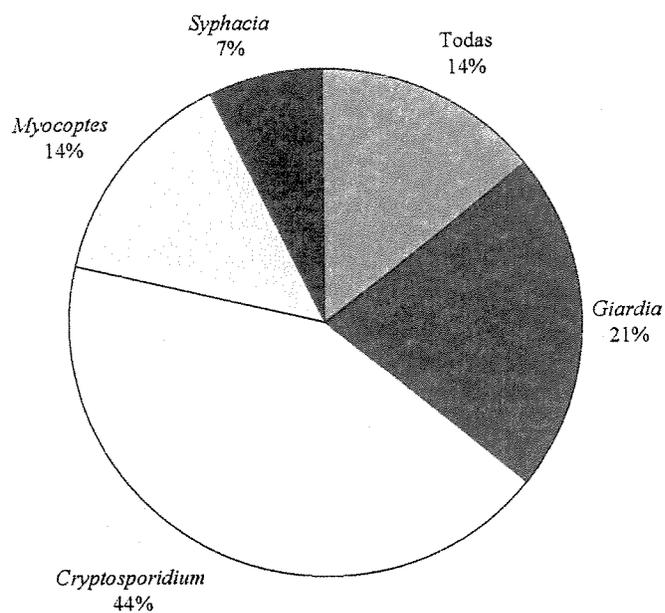
Gráfico 3 - Porcentagem de alternativas escolhidas pelos usuários para as respectivas assertivas avaliadas.



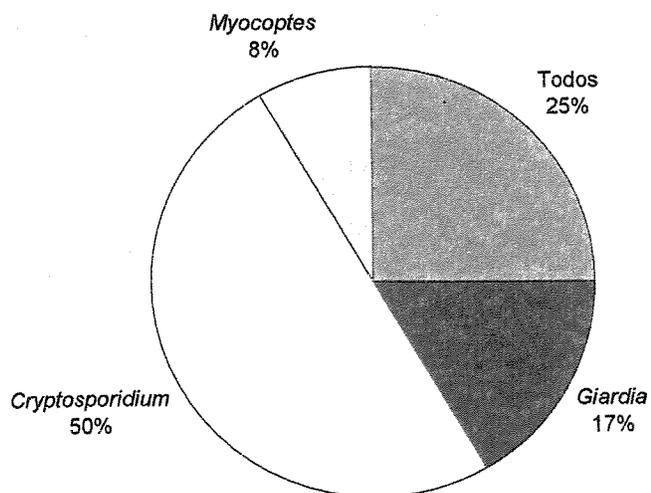
**Gráfico 4 - Médias dos atributos para as respectivas assertivas, a partir de uma tabulação ponderada da escala de Likert.**



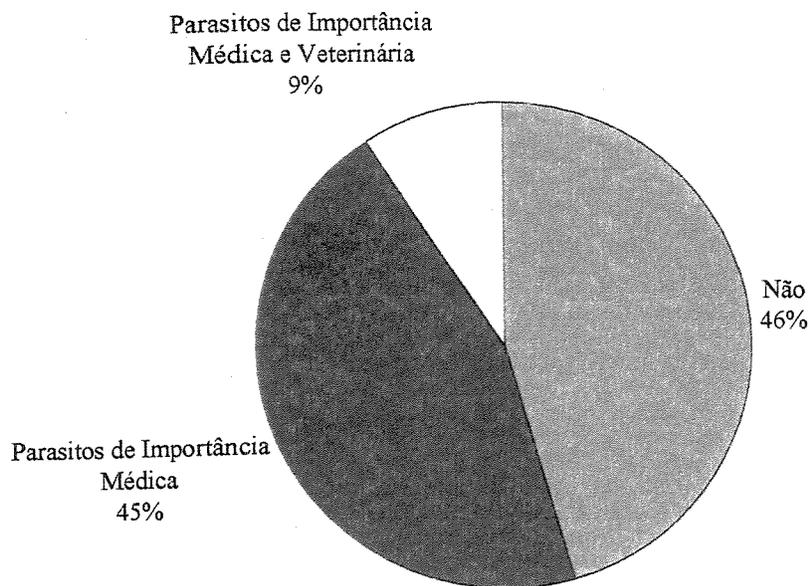
**Gráfico 5 – Resultado da pergunta: “Na sua opinião qual animação considera melhor?”.**



**Gráfico 6- Resultado da questão “Assinale o parasito que você achou mais interessante no software”.**



**Gráfico 7 – Resultado da questão: “Você acha que algum outro parasito deveria ser abordado nesse software? Se sim, especifique”.**



Além das questões, cujas respostas estão apresentadas nos gráficos, o questionário disponibilizou espaços para comentários e sugestões. Como nem todos respondentes preencheram estes campos, os comentários obtidos seguem transcritos abaixo.

1. Seria muito interessante desenvolver um software para parasitas humanos, separados em protozoários, helmintos e outros para utilizarmos nas aulas tanto de graduação quanto do ensino médio.
2. Seria interessante envolver outros parasitas, não somente de animais de laboratório, mas também de humanos para fins didáticos (para graduação) para permitir melhor entendimento da morfologia e principalmente o ciclo de vida e as patologias que se desenvolvem no hospedeiro.

3. Começar a pensar em fazer os próximos cds, editá-los e sugerir em escolas ou demais instituições, pois foi um trabalho maravilhoso e sem dúvida indispensável para o ensino médio e universitário. Parabéns.
4. Fazer um software aplicado para aulas práticas de laboratório, incluindo todos os outros parasitas, pelo menos os mais clássicos, protozoários, helmintos.
5. De um modo geral o software foi bem desenvolvido proporcionando através dos vídeos uma visão da morfologia e principalmente do ciclo de vida dos parasitos aqui estudados, devido a sua exibição em dimensões que simulam o realismo, em especial o *Cryptosporidium spp.* Este trabalho ao meu ver pode ser aplicado em diferentes áreas de ensino como genética, microbiologia (bacteriologia, virologia ), fisiologia, enfim, especialmente as que se centralizam em vidas ou moléculas microscópicas. Acredito que seria interessante incluir neste programa um endereço eletrônico disponível para contato, dúvidas e sugestões. Não sei se seria possível mas, futuramente em outros volumes uma opção UPDATE para atualização de informações a partir de um site central ( CEMIB: talvez ).
6. O material demonstra clareza do tema em questão e ajuda no entendimento básico de tais parasitos, podendo ser uma ferramenta útil para ilustração em sala de aula. Uma sugestão que acho relevante seria utilizar algumas fotos junto as figuras para dar uma noção mais real de cada parasito.
7. Para futuros trabalhos, seria interessante aumentar o número de parasitos abordados, ou então, com um pouco mais de tempo, desenvolver softwares específicos para cada categoria de parasitos. Acredito que a abordagem do trabalho está correta e sendo assim poderá continuar com o mesmo padrão. Com absoluta certeza, esse seu trabalho inicial está perfeito.
8. Quero parabenizá-lo pelo projeto desenvolvido! Você abordou com muita didática cada um dos parasitas mencionados utilizando uma área promissora, a criação de softwares voltados para a educação. Gostaria de ver parasitas de hospedeiros humanos serem explorados em trabalhos como o seu. Com certeza também seria um sucesso!
9. As animações estão ótimas e o conteúdo de informações está bem condensado, evitando o desgaste na hora da leitura, as imagens ficaram um pouco escuras.

10. Gostei muito do CD, achei bem explicativo e pedagógico, porém acho que poderia ser um pouco mais rápido.
11. Gostei muito do vídeo, a única coisa é que acho que na pagina principal, a parte dos parasitos poderia ter ainda maior destaque do que os outros itens.
12. Como já disse, a idéia é ótima, adorei entrar em contato com estas informações. Consiste numa maneira didática e dinâmica de adquirir informações. Achei muito interessante a maneira como os tópicos foram abordados.
13. Aproveitamento de 100% do software. Um fantástico material didático.
14. Excelente material didático.
15. Excelente software – Parabéns
16. Cuidado com as músicas utilizadas, piano muito marcante ou temas muito conhecidos.
17. Em alguns vídeos ficaram faltando informações. Por exemplo: no vídeo do *Myocoptes musculus* você diz que o último par de patas do macho não é tão diferenciado. Mas pq? Acho que você podia falar uma hipótese. Sei que é meio obvio falar isso, mas o ideal seria que não houvesse nenhuma parte escrita: somente animações ou coisas interativas e clicáveis. Gostei muito do CD: apesar de ser um “xulo” no assunto, entendi muito bem tudo o que está descrito, tanto nas animações como na parte escrita.
18. Gostei muito do trabalho. É uma tese escrita num formato muito mais agradável e com maior possibilidade de aplicação.
19. Achei excelente o software e acredito que a utilização em sala de aula é mais que necessária; vocês poderiam instalar nos computadores da graduação para que os alunos tenham acesso à este material de alta qualidade e funcionalidade (algo que, em geral, as disciplinas ministradas no curso de Biologia estão carecendo). Parabéns pelo empenho e pelo trabalho concretizado.

## 5. DISCUSSÃO

A análise das informações obtidas com o questionário de avaliação permite averiguar que o software foi bem aceito, de um modo geral, pelos usuários.

O Gráfico 1 apresenta o resultado obtido com as dez primeiras assertivas, de acordo com a escala de Likert. Nota-se que prevaleceu a aprovação na maioria das assertivas e destaca-se o atributo “facilidade de acesso às informações” (1), onde a totalidade dos respondentes conferiu seu maior grau de concordância a essa afirmação.

O acesso rápido e visual ao item procurado é um dos benefícios que podem ser muito bem explorados quando produzimos softwares dedicados ao ensino. Com a popularização da Internet a maioria dos usuários acabou se familiarizando com seqüências de menus interativos, onde o clique sobre um botão leva à informação desejada. Esse foi o processo utilizado na presente produção, e a alta aceitação pelos usuários evidencia o auspicioso futuro deste método.

Podemos perceber ainda que a alternativa “concordo totalmente” só foi superada por outras nas assertivas “conhecimento prévio necessário” e “velocidade do computador adequada”, respectivamente identificadas pelos números 8 e 10.

A discordância com a assertiva oito, na verdade não é maléfica ao software. Ao contrário permitiria utilizá-lo em disciplinas de base, onde o usuário ainda não possui um conhecimento prévio dos parasitos estudados. Apesar de a alternativa “concordo” superar 50%, esta foi a única a apresentar um índice de discordância plena, com cerca de 8% dos usuários optando pela alternativa “discordo totalmente”. Além disso cerca de 23% optaram pela alternativa “discordo”.

No que se refere à assertiva dez, a velocidade dos computadores ainda mostra ser um problema para uma pequena porcentagem dos usuários, pois cerca de 8% dos respondentes não consideraram a velocidade do computador utilizado adequada à execução do software. Esse índice mostrou-se bem mais baixo do que o esperado, já que as animações gráficas produzidas requerem um poder de processamento geralmente não oferecido pelos computadores mais antigos presentes nas instituições de ensino. Contudo, como o CD foi fornecido gratuitamente, houve a possibilidade de escolha, por parte do

usuário, do melhor momento para visualização e melhor máquina para utilizar. Assim, foi possível utilizar um computador pessoal de maior qualidade, quando disponível.

Como forma de disponibilizar uma animação mais leve e conseqüentemente mais linear, foi criado o Menu Resolução (vide item 4.1.5), onde o usuário pode escolher a resolução da animação de acordo com a velocidade de seu computador. A possibilidade desta opção também contribuiu para que o software pudesse ser apresentado em diferentes tipos de computadores.

No Gráfico 2 foi atribuído um peso a cada uma das alternativas e a pontuação máxima (cinco) equivale ao maior grau de aceitação por parte dos respondentes. Esse gráfico facilita a visualização de quais assertivas obtiveram maior ou menor aceitação, em uma escala de zero a cinco.

A assertiva cinco, que se refere ao som das animações, obteve a segunda menor média dentre as dez examinadas, perdendo apenas para a assertiva oito já discutida anteriormente. Apesar de a média superior a 3,5 ser ainda bem elevada, a qualidade do som precisa ser aprimorada para as futuras produções. No presente trabalho a narração foi gravada utilizando microfones simples, em frente ao computador, sem qualquer isolamento acústico. Próximos softwares deverão conseguir uma qualidade superior se utilizado estúdios para gravação, possibilitando o melhor entendimento da narração e melhor sobreposição com a música de fundo.

Na avaliação das assertivas propostas aos profissionais ou estudantes da área podemos ver pelo Gráfico 3 que a soma das alternativas “concordo totalmente” e “concordo” aproxima-se de 100% para cada uma delas.

O Gráfico 4 evidencia que todas as cinco assertivas obtiveram excelente aceitação, com médias superiores a 4. Desse modo, os anseios propostos foram alcançados satisfatoriamente.

O resultado da pergunta “Na sua opinião qual animação considera melhor?”, apresentado no Gráfico 5, frisa a animação do parasito *Cryptosporidium* como a de maior sucesso, escolhida por cerca de 44% dos respondentes. Esta é a animação gráfica que tem a maior duração e descreve em detalhes todo o ciclo de vida do parasito, prendendo a atenção

do usuário às transformações morfofisiológicas que o parasito sofre ao longo de seu desenvolvimento endógeno.

A segunda animação preferida foi a do parasito *Giardia muris*, com cerca de 21% dos votos. Trata-se de uma das animações mais curtas, porém ilustra toda a morfologia do trofozoíto deste protozoário. Os respondentes devem ter optado por esta animação devido a sua simplicidade na apresentação das estruturas principais do parasito.

No que se refere ao resultado da questão “Assinale o parasito que você achou mais interessante no software”, apresentado no Gráfico 6, o parasito *Cryptosporidium* também foi o mais votado. Deve-se considerar que o ponto alto do software é a animação gráfica em si, sendo assim, os dois parasitos mais votados coincidem com as duas animações mais votadas. Nota-se que cerca de 25% dos respondentes assinalou todos os parasitos nesta questão.

No Gráfico 7 podemos ver o resultado da pergunta “Você acha que algum outro parasito deveria ser abordado nesse software?”. Cerca de 46% dos respondentes julgaram que não deveria ser abordado outro parasito. Contudo, houve grande interesse em um software que abordasse parasitos de importância médica, pois cerca de 45% sugeriram parasitos que ocorrem em humanos. Esse anseio veio a se confirmar nos comentários e sugestões dos usuários.

As sugestões obtidas revelam o interesse dos respondentes pela criação de novos softwares com temas variados.

Dentro do estudo da parasitologia o mais sugerido foi a abordagem de parasitos de importância médica, porém, outras áreas das ciências biológicas foram citadas, assim como a criação de temas voltados para o ensino médio.

Uma sugestão interessante seria “utilizar algumas fotos junto às figuras para dar uma noção mais real de cada parasito”. Esse conselho será considerado e fotos dos parasitos poderão ser adicionadas a futuras versões deste software.

## **6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS**

O desfecho do presente trabalho foi satisfatório com base nos objetivos pretendidos. A produção dos modelos e animações gráficas teve êxito em ilustrar os

principais parasitos de camundongos de laboratório, criando uma fonte de consulta e estudo para pesquisadores, técnicos de biotérios e estudantes de graduação e pós-graduação. Esta servirá também como fonte de informação e deleite a qualquer interessado no tema. A aceitação foi elevada por parte dos usuários indicando que o caminho a seguir para futuras produções está traçado.

Subseqüentemente, pretende-se produzir a versão em espanhol do software aqui desenvolvido, possibilitando sua utilização fora do país.

Está ainda em perspectiva a disseminação do CD-ROM na **RETELDEA 2**- Rede Temática Espanhola Latino-americana de Docência em Experimentação Animal. Esta rede foi criada em 1998. Durante a RETELDEA1, no triênio 1998-2000, foi possível ministrar dois cursos anuais presenciais de 80 horas para pesquisadores usuários de animais de experimentação. Destina-se a capacitação de profissionais na América Latina. Participam seis países na RETELDEA 2: Espanha (Universidade de Granada, Universidade Autônoma de Barcelona, Universidade de las Islas Baleares), Argentina (Universidade Nacional de La Plata), Brasil (Universidade Estadual de Campinas), México (Universidade Nacional Autônoma do México), Chile (Pontifícia Universidade Católica do Chile) e Costa Rica (Universidade de Costa Rica).

A produção de novos softwares com temas diversos também é uma meta a ser alcançada. Há na parasitologia grande variedade de assuntos a serem abordados, que dificilmente serão esgotados. As ciências biológicas trazem uma infinidade de temas. Áreas como imunologia, embriologia, fisiologia, genética, bioquímica, microbiologia, entre outras, podem ser extremamente bem exploradas no que se refere à criação de animações gráficas para ilustrar os fenômenos essencialmente dinâmicos.

Quando enfim, para transmitir o conhecimento adquirido nas ciências biológicas, aproveitarmos os recursos que a computação gráfica tem a oferecer, poderemos transferir mais conhecimento em um menor espaço de tempo sem causar no estudante o tormento do excesso de informações.

O já escasso tempo dos nossos cursos de graduação poderá ser mais bem aproveitado, seja para absorver todas as informações que vem se acumulando durante os anos, seja para refletir e discutir sobre o assunto de estudo.

## **Bibliografia Fundamental**

BRONSON, FH. The adaptability of the House Mouse. **Scientific Am.** 250(3): 90-97, 1984.

CHISNALL PM. **Marketing Research: Analysis and Measurement.** London: McGraw-Hill Book Company, 1973, 308p.

FAUZE NM. **Pesquisa de Marketing – edição compacta.** São Paulo: Editora Atlas, 1996, 270p.

FLYNN RJ. **Parasites of Laboratory Animals.** Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1973, 883 p.

FOSTER HL, SMALL JD, FOX JG. **The Mouse in Biomedical Research,** Vols. I, III, IV. American College of Laboratory Animal Medicine Series. New York: Academic Press, 1982, vI, 305p.

GADE C. **Psicologia do consumidor.** São Paulo: EPU, 1980, 186p.

GILIOLI R. **Avaliação do Perfil Sanitário de Colônias de camundongos e de Ratos em Biotérios Brasileiros: Ocorrência de Bactérias, Parasitas e Vírus Murinos.** Tese apresentada ao Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, SP, 2003, 112p.

GILIOLI R, ANDRADE LAG, PASSOS LAC, SILVA FA, RODRIGUES DM, GUARALDO AMA. Parasite survey in mouse and rat colonies of Brazilian laboratory animal houses kept under different sanitary barrier conditions. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 52(1); 33-37, 2000.

SVENDSEN P, HAU J. **Handbook of laboratory animal Science**. Ann Arbor: CRC Press, 1994, vII, 212p.

WAGGIE K, KAGIYAMA N, ALLEN AM, NOMURA T. **Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals**. US, Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health, National Center for Research Resources, Bethesda, 1994 (NIH publication N° 94-2498), 226 p.

ZÚÑIGA JM, MARÍ JAT, MILOCCO SN, PIÑEIRO R. **Ciencia y Tecnología en protección y experimentación Animal**. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 2001, 688p.

### ***Cryptosporidium***

ALVAREZ-PELLITERO P, SITJA-BOBADILLA A. *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. And *Dicentrarchus labrax* L. **Int. J. Parasitol.** 32(8):1007-21, 2002.

BAKER JR, MULLER R., ROLLINSON D, TZIPORI S. Opportunistic Protozoa in Humans. **Adv. Parasitol.** 40: 3-272, 1998.

BJORNEBY JM, HUNSAKER BD, RIGGS MW, PERRYMAN LE. Monoclonal antibody immunotherapy in nude mice persistently infected with *Cryptosporidium parvum*. **Infect. Immun.** 59(3):1172-1176, 1991.

CHEN W, HARP JA, HARMSSEN AG. Requirements for CD4+ cells and gamma interferon in resolution of established *Cryptosporidium parvum* infections in mice. **Infect. Immun.** 61:3928-3932, 1993.

CHRISP CE, SUCKOW MA, FAYER R, ARROWOOD MJ, HEALEY MC, STERLING CR. Comparison of the host ranges and antigenicity of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium wrairi* from guinea pigs. **J. Protozool.** 39(3): 406-409, 1992.

- FAYER R, MORGAN U, UPTON SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **Int. J. Parasitol.** 30: 1305-1322, 2000.
- FAYER R, TROUT JM, XIAO L, MORGAN UM, LAI AA, DUBEY JP. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. **J. Parasitol.** 87(6): 1415-22, 2001.
- GRAAF DC, VANOPDENBOSCH E, ORTEGA-MORA LM, ABBASSI H, PEETERS JE. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **Int. J. Parasitol.** 85(8): 1269-87, 1999.
- GRIFFITHS JK, THEODOS C, PARIS M, TZIPORI S. The gamma interferon gene knockout mouse: a highly sensitive model for evaluation of therapeutic agents against *Cryptosporidium parvum*. **J. Clin. Microb.** 36: 2503-2508, 1998.
- HENRIKSEN A, POHLENZ JFL. Staining of *Cryptosporidium* by a modified Ziehl-Neelsen technique. **Acta Vet. Scand.** 22: 594-596, 1981.
- ISEKI M, MAEKAWA T, MORIYA K, UNI S, TAKADA S. Infectivity of *Cryptosporidium muris* (strain 66) in various laboratory animals. **Parasitol. Res.** 75: 218-222, 1989.
- LINDSAY DS, UPTON SJ, OWENS DS, MORGAN UM, MEAD JR, BLAGBURN BL. *Cryptosporidium andersoni* n. Sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from Cattle, *Bos taurus*. **Euk. Microbiol.** 47(1): 91-95, 2000.
- OSTROVSKA K, PAPERNA I. *Cryptosporidium* sp. of the starred lizard *Agama stellio*: ultrastructure and life cycle. **Parasitol. Res.** 76: 712-720, 1990.

- PATEL S, PEDRAZA-DIAZ S, MCLAUCHLIN J. The identification of *Cryptosporidium* species and *Cryptosporidium parvum* directly from whole faeces by analysis of a multiplex PCR of the 18S rRNA gene and by PCR/RFLP of the *Cryptosporidium* outer wall protein (COWP) gene. **Int. J. Parasitol.** 29(8):1241-7, 1999.
- PENG MM, XIAO L, FREEMAN AR, ARROWOOD MJ, ESCALANTE AA, WELTMAN AC, ONG CS, MACKENZIE WR, LAL AA, BEARD CB. Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. **Emerg. Infect. Dis.** 3(4):567-73, 1997.
- PIENIAZEK NJ, BORNAY-LLINARES FJ, SLEMENDA SB, DA SILVA AJ, MOURA IN, ARROWOOD MJ, DITRICH O, ADDISS DG. New cryptosporidium genotypes in HIV-infected persons. **Emerg. Infect. Dis.** 5(3):444-9, 1999.
- REDUCKER DW, SPEER CA, BLIXT JA. Ultrastructure of *Cryptosporidium parvum* Oocysts and Excysting Sporozoites as Revealed by High resolution Scanning Electron Microscopy. **J. Protozool.** 32(4): 708-711, 1985.
- THOMPSON RCA. Presidential address: rediscovering parasites using molecular tools – towards revising the taxonomy of *Echinococcus*, *Giardia* and *Cryptosporidium*. **Int. J. Parasitol.** 32: 493-496, 2002.
- TYZZER EE. An extracellular coccidium *Cryptosporidium muris* (Gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. **J. Med. Res.** 23:487-516, 1910.
- TYZZER EE. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. **Arch. Protistenkd.** 26:394-412, 1912.
- TZIPORI S, WARD H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. **Microbes and Infection**, 4: 1047-1058, 2002.

UNGAR BL, KAO TC, BURRIS JA, FINKELMAN FD. *Cryptosporidium* infection in an adult mouse model. Independent roles for IFN-gamma and CD4+ T lymphocytes in protective immunity. **J. Immunol.** 147: 1014-1022, 1991.

UNI S, ISEKI M, MAEKAWA T, MORIYA K, TAKADA S. Ultrastructure of *Cryptosporidium muris* (strain RN 66) paraziting the murine stomach. **Parasitol. Res.** 74: 123-132, 1987.

YOSHIKAWA H, ISEKI M. Freese-Fracture Study of the Site of Attachment of *Cryptosporidium muris* in Gastric Glands. **J. Protozool.** 39(5): 539-544, 1992.

### ***Giardia* spp.**

BELOSEVIC M, FAUBERT GM, MACLEAN JD. *Giardia muris*-induced depression of the primary immune response in spleen and mesenteric lymph node cell cultures to sheep red blood cells. **Parasite Immun.** 7: 467-78, 1985.

BELOSEVIC M, FAUBERT GM, SKAMENE E, MACLEAN JD. Susceptibility and resistance of inbred mice to *Giardia muris*. **Infect. Immun.** 44(2): 282-286, 1984.

BURET A, GALL DG, OLSON ME. Effects of murine giardiasis on growth, intestinal morphology, and disaccharidase activity. **J. Parasitol.** 76(3): 403-409, 1990.

FARTHING, M. J. G., KEUSCH, G. T., AND CAREY, M. C. Effects of bile and bile salts on growth and membrane lipid uptake by *Giardia lamblia*. Possible implications for pathogenesis of intestinal disease. **J. Clin. Invest.** 76:1727-1732, 1985.

HEYWORTH, M. F. Time-course of *Giardia muris* infection in male and female immunocompetent mice. **J. Parasitol.** 74:491-493, 1988.

LJUNGSTROM I, HOLMGREN J, SVENNERHOLM AM, FERRANTE A. Changes in intestinal fluid and mucosal immune responses to cholera toxin in *Giardia muris* infection and binding of cholera toxin to *Giardia muris* trophozoites. **Infect. Immun.** 50: 243-9, 1985.

SEBESTENY A. Pathogenicity of intestinal flagellates in mice. **Lab. Anim.** 3:71-77, 1969.

SOGAYAR MIL, GREGÓRIO EA. *Giardia muris* and *Giardia duodenalis* groups: Ultrastructural differences between the trophozoites. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo** 31(4):242-247, 1989.

WALZER PD, GENTA RM. **Parasitic infections in the compromised host.** New York: Basel M. Dekker, 1989, 532p.

### ***Myocoptes musculus e Myobia musculi***

BAKER EW, EVANS TM, GOULD DJ, HULL WB, KEEGAN HL. **A Manual of Parasitic Mites of Medical or Economic Importance.** US, Technical Publication of the National Pest control Association, New York, 1967, 170p.

FRIEDMAN S, WEISBROTH SH. The Parasitic Ecology of the Rodent Mite, *Myobia musculi*. IV. Life Cycle. **Lab. Anim. Sci.** 27(1): 34-37, 1977.

GALTON M. Myobic mange in mice leading to skin ulceration and amyloidosis. **Am. J. Path.** 43:855-865, 1963.

MATSUZAKI S. On morphology of a myocoptic mite studied through all its developmental stages. **Bull. Kochi Women's Univ.** 14:9-15, 1966.

NEEDHAM JR. The control of mange mites (*Myocoptes musculus* and *Myobia musculi*) in a conventional mouse colony. **J. Inst. Anim. Tech.** 29:1-15, 1978.

PAPINI R, MARCONCINI A. Treatment with ivermectin in drinking water against *Myobia musculi* and *Myocoptes musculinus* mange in naturally infected laboratory mice. **Angew. Parasitol.** 32:11-13, 1991.

PARAN TP. Functional Morphology of the Gnathosoma in *Myobia musculi* (Schrank, 1781) (Trombidiformes-Acari). **Acarologia** 23(4): 347-357, 1982.

WATSON DP. On the adult and immature stages of *Myocoptes musculinus* (Koch) with notes on its biology and classification. **Acarologia** 2:335-344, 1960.

WATSON DP. The effect of the mite *Myocoptes musculinus* (C.L.Koch) on the skin of the white laboratory mouse and its control. **Parasitology** 51:373-378, 1961.

WEISBROTH SH, FRIEDMAN S, SCHER S. The Parasitic Ecology of the Rodent Mite, *Myobia musculi*. III. Lesions in Certain Host Strains. **Lab. Anim. Sci.** 26(5): 725-735, 1976.

WING SR, COURTNEY CH, YOUNG MD. Effect of ivermectin on murine mites. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 187:1191-1192, 1985.

WOOLLEY TA. **Acarology: Mites and Human Welfare.** New York: Wiley-Interscience, 1988, 484p.

### ***Spironucleus* spp**

BRETT SJ. Immunodepression in *Giardia muris* and *Spironucleus muris* infections in mice. **Parasitol.** 87: 507-515, 1983.

- BRETT SJ, COX FE. Immunological aspects of *Giardia muris* and *Spiroucleus muris* infections in inbred and outbred strains of laboratory mice: a comparative study. **Parasitol.** 85: 85-99, 1982.
- BRETT SJ, COX FE. Interactions between the flagellates *Giardia muris* and *Spiroucleus muris* and the blood parasites *Babesia microti*, *Plasmodium yoelii* and *Plasmodium berghei* in mice. **Parasitol.** 85(1):101-110, 1982b.
- EXON JH, PATTON NM, KOLLER LD. Hexamitiasis in cadmium-exposed mice. **Arch. Environ Health.** 30(9):463-464, 1975.
- JANUSCHA MM, ERLANDSEN SL, BEMRICK WJ, SCHUPP DG, FEELY DE. A Comparison of *Giardia microti* and *Spiroucleus muris* cysts in the Vole: an Immunocytochemical, Light and Electron Microscopic Study. **J. Parasitol.** 74(3): 452-458, 1988.
- KOUDELA B, KARR CD, MEYER EA, MEYER B, JARROLL EL. In Vitro Excystation of *Spiroucleus muris*. **J. Euk. Microbiol.** 43(1): 61-64, 1996.
- KUNSTYR I, AMMERPOHL E. Resistance of faecal cysts of *Spiroucleus muris* to some physical factors and chemical substances. **Lab. Anim.** 12:95-97, 1978.
- MULLINK JWMA, RUITENBERG EJ, KRUIZINGA W. Lack of effect of *Spiroucleus (Hexamita) muris* on the immune response to tetanus toxoid in the rat. **Lab. Anim.** 14:127-128, 1980.
- POYNTON SL, MORRISON CM. Morphology of Diplomonad Flagellates: *Spiroucleus torosa* N. Sp. from Atlantic Cod *Gadus morhua* L., and Haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.) and *Hexamita salmonis* Moore from Trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). **J. Protozool.** 37(5): 369-383, 1990.

SEBESTENY A. The transmission of intestinal flagellates between mice and rats. **Lab Anim.** 8:79-81, 1974.

WAGNER JE, DOYLE RE, RONALD NC, GARRISON RG, SCHMITZ JA. Hexamitiasis in laboratory mice, hamsters, and rats. **Lab. Anim. Sci.** 24:349-354, 1974.

WHITEHOUSE A, FRANCE MP, POPE SE, LLOYD JE, RATCLIFFE RC. *Spirotrunculus muris* in Laboratory Mice. **Aust. Vet. J.** 70(5): 193, 1993.

### ***Syphacia* spp**

BAZZANO T, RESTEL TI, PINTO RM, GOMES DC. Patterns of Infection with the Nematodes *Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera* in Conventionally Maintained Laboratory Mice. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 97:1-5, 2002.

CROFTON HD. **Nematodes**. London: Hutchison University Press, 1966, 160p.

GONÇALVES L, PINTO RM, VICENTE JJ, NORONHA D, GOMES DC. Helminth Parasites of Conventionally Maintained Laboratory Mice - II. Inbred Strains with an Adaptation of the Anal Swab Technique. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 93(01):121-126, 1998.

LEWIS JW, D'SILVA J. The life-cycle of *Syphacia muris* Yamaguti (Nematoda: Oxyuroidea) in the laboratory rat. **J. Helminth.** 60:39-46, 1986.

HUSSEY KL. *Syphacia muris* vs. *S. obvelata* in laboratory rats and mice. **J. Parasitol.** 43: 555-559, 1957.

PEARSON DJ, TAYLOR G. The influence of the nematode *Syphacia obvelata* on adjuvant arthritis in the rat. **Immun.** 29: 391-6, 1975.

QUENTIN JC. Morphologie comparée des structures céphaliques et génitales des Oxyures du genre *Syphacia*. **Annal. Parasitol.** 1:15-60, 1971.

QUENTIN JC. Sur la morphologie de *Syphacia callosciuri* n. Sp., Oxyure parasite d'un Écureuil de Malaisie et sur l'origine de l'Oxyure du Rattus: *Syphacia muris*. **Annal. Parasitol.** 5: 559-567, 1977.

TAFFS LF. Pinworm infections in laboratory rodents. A review. **Lab. Anim.** 10:1-13, 1976.

VAN DER GUDEN WJI, VAN ERP AJM. The effect of peracetic acid as a deinfectant on worm eggs. **Lab. Anim. Sci.** 22:225-226, 1972.

WHARTON DA. The structure and formation of the egg-shell of *Syphacia obvelata* Rudolphi (Nematoda: Oxyurida). **Parasitology** 79:13-28, 1979.

YORKE W. **The nematode parasites of vertebrates.** New York : Hafner Press, 1969, 536p.

### ***Tritrichomonas* spp.**

CAVALIER-SMITH T. The origin of cells: A symbiosis between genes, catalysts and membranes. **Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.** 52:805-824, 1987.

CAVALIER-SMITH T. Kingdom protozoa and its 18 Phyla. **Microbiol. Rev.** Dec. 1993, p.953-994. 1993.

DACKS JB, KASINSKY HE. Nuclear condensation in protozoan gametes and the evolution of anisogamy. **Comp. Bioch. Physiol.** 124:287-295, 1999.

- DANIEL WA, MATTERN CFT, HONIGBERG BM. Fine Structure of the Mastigont System in *Tritrichomonas muris* (Grassi). **J. Protozool.** 18(4):575-585, 1971.
- GERBOD D, EDGCOMB VP, VISGOGLIOSI PD, VISGOGLIOSI E. Phylogenetic position of parabasalid symbionts from the termite *Calotermes flavicollis* based on small subunit rRNA sequences. **Int. Microbiol.** 3: 165-172, 2000.
- KEELING PJ. A kingdom's progress: Archeozoa and the origin of eukaryotes. **Bioessays** 20: 87-95, 1998.
- MATTERN CFT, DANIEL W. *Tritrichomonas muris* in the hamster: Pseudocyst and the Infection of Newborn. **J. Protozool.** 27(4):435-439, 1980.
- VISGOGLIOSI E, PHILIPPE H, BAROIN A, PERASSO R, BRUGEROLLE G. Phylogeny of Trichomonads Based on Partial Sequences of Large Subunit rRNA and on Cladistic Analysis of Morphological Data. **J. Euk. Microbiol.** 40(4):411-421, 1993.
- WAGGIE K, KAGIYAMA N, ALLEN AM, NOMURA T. **Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals.** US, Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health, National Center for Research Resources, Bethesda, 1994 (NIH publication N° 94-2498), 226 p.
- WARTON A, HONIGBERG BM. Structure of Trichomonads as Revealed by Scanning Electron Microscopy. **J. Protozool.** 26(1):56-62, 1979.

## ANEXO I

### Questionário de Avaliação do Software “Parasitos de Camundongos de Laboratório”

#### I – Identificação

Nome (opcional): \_\_\_\_\_ e-mail (opcional): \_\_\_\_\_

Faculdade / Instituto / Departamento: \_\_\_\_\_

Categoria:

Estudante de graduação  Professor  Técnico

Estudante de pós-graduação  Estagiário  Outro: \_\_\_\_\_

II – Teve acesso ao software a partir de alguma disciplina cursada? \_\_\_\_\_ Se sim, especifique qual:

\_\_\_\_\_

III – Assinale a opção correspondente, de acordo com a legenda abaixo:

**Legenda: DT = Discordo totalmente; D = Discordo; NA = Não concordo nem discordo; C = Concordo; CT = Concordo totalmente.**

1. O software apresenta fácil acesso às informações.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
2. Os desenhos ilustram bem o parasito estudado.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
3. As animações agilizam o entendimento da morfologia do parasito.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
4. Tendo em mente a produção gráfica apresentada, poderei identificar mais facilmente o parasito em situações reais.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
5. O som das animações está adequado.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
6. Gostaria de possuir esse software para estudar em outros períodos de acordo com a minha disponibilidade e interesse.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
7. Os professores deveriam utilizar esse tipo de animações gráficas em suas aulas.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
8. Preciso ter um conhecimento prévio do assunto para entender as animações.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
9. O ambiente de navegação do software é adequado.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )
10. A velocidade do computador que utilizei está adequada à execução do software.	DT ( )	D ( )	NA ( )	C ( )	CT ( )

IV – Na sua opinião qual animação considera melhor? \_\_\_\_\_

V – Comentários e sugestões:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Se você é profissional ou estudante da área, responda os itens abaixo:

**VI – Assinale o parasito que você achou mais interessante no “software”.**

- Cryptosporidium* ( )                      *Myocoptes musculus* ( )  
*Giardia muris* ( )                        *Myobia musculi* ( )  
*Tritrichomonas muris* ( )                *Syphacia obvelata* ( )  
*Spiroucleus muris* ( )

**VII – Assinale a opção correspondente, de acordo com a legenda abaixo:**

**Legenda: DT = Discordo totalmente; D = Discordo; NA = Não concordo nem discordo; C = Concordo; CT = Concordo totalmente.**

11. O texto possui informações importantes para consulta.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
12. Os tópicos abordados abrangem adequadamente cada parasito.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
13. A produção gráfica ilustra bem a realidade de cada organismo.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
14. A utilização do software não precisa ser específica para a área de animais de laboratório.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )
15. Os parasitos a serem abordados foram bem escolhidos.	<b>DT</b> ( )	<b>D</b> ( )	<b>NA</b> ( )	<b>C</b> ( )	<b>CT</b> ( )

**VIII – Você acha que algum outro parasito deveria ser abordado nesse software? \_\_\_ Se sim, especifique: \_\_\_\_\_**

**IX – Comentários e sugestões:**

---



---



---



---



---

## ANEXO II

Faz parte integrante desta tese um CD-ROM com o software desenvolvido.

Os requisitos do sistema para que o software funcione corretamente são:

- Windows 98 ou superior
- 128 MB de memória RAM ou superior
- Unidade de CD-ROM 4X ou superior
- Velocidade de processamento de 500 MHz ou superior
- Monitor configurado para resolução de 800x600 pixels ou superior
- Placa de som
- Mouse

Os requisitos do sistema recomendados para a melhor performance de execução do software são:

- Windows XP
- 512 MB de memória RAM
- Unidade de CD-ROM 52X
- Velocidade de processamento de 1,2 GHz
- Monitor configurado para resolução de 1024x768 pixels
- Placa de som
- Mouse
- Placa de vídeo de 64MB

Para instalar o software basta inserir o CD na unidade de CD-ROM e aguardar que uma tela explicativa seja aberta, caso isso não aconteça execute o programa “autorun.exe” do CD.

O CD deve estar necessariamente inserido em sua unidade de CD-ROM durante a execução do software.