

ESCOLA SUPERIOR BATISTA DO AMAZONAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
ANDRESSA KARINA LEITÃO DA ENCARNAÇÃO

OCORRÊNCIA DE ECTO E ENDOPARASITOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*)
NO BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

Manaus
2014

ANDRESSA KARINA LEITÃO DA ENCARNAÇÃO

**OCORRÊNCIA DE ECTO E ENDOPARASITOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*)
NO BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**

Trabalho de conclusão de curso como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de graduação em Medicina Veterinária.

Orientador professor Dr. Fábio Silva de Souza

Manaus

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Encarnação, Andressa Karina Leitão da

E56o Ocorrência de ecto e endoparasitos em ratos (*Rattus norvegicus*) no biotério central da Universidade Federal do Amazonas. / Andressa Karina Leitão da Encarnação. -- Manaus: [s. n.], 2014.

32 p.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Escola Superior Batista do Amazonas (ESBAM).

Orientador: Prof. Dr. Fabio Silva de Souza.

1. Ectoparasitos 2. Endoparasitos 3. Ratos 4. Diagnóstico parasitológico 5. Medicina veterinária I. Título

CDD – 636.0896

Bibliotecária Responsável: Anna Kelly de Lima Gouvêa – CRB/11ª – 620

ANDRESSA KARINA LEITÃO DA ENCARNAÇÃO

**OCORRÊNCIA DE ECTO E ENDOPARASITOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*)
NO BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**

Trabalho de conclusão de curso como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de graduação em Medicina Veterinária.

Orientador professor Dr. Fábio Silva de Souza

Aprovado em 30/05/2014

Fábio Silva de Souza Dr. ESBAM

Raquel Silva Lisbôa. Dra. ESBAM

Leonardo Brandão Matos. Me. INPA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por ter permitido realizar esse sonho e por ter me concedido sabedoria e força para vencer os obstáculos durante esses cinco anos.

Agradeço às pessoas que foram responsáveis por ter me feito chegar até aqui, pessoas sem as quais esse trabalho jamais existiria meu pai Américo Leitão e minha mãe Maria do Perpetuo Socorro sem vocês esse sonho nunca teria se concretizado.

Pai, muito obrigada pela força, esforço, pelas suas palavras de estímulo e por nunca me deixar desistir. Mãe obrigada pela compreensão, carinho e amor.

Ao meu marido Mauricio Encarnação pelo incentivo, apoio e carinho. Além de ter estado sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins. Não tenho nem palavras para descrever o que significou para mim durante estes anos. O seu companheirismo, sua parceria e suas palavras: - Não desiste, falta pouco! O meu, muito obrigada! Você não sabe o quanto me ajudou.

A minha irmã, Andréa pelo seu apoio e confiança que sempre demonstrou e pelo orgulho que sentes por mim, me deram ânimo de continuar e não deixar nada me abalar. Ao meu irmão, Aurélio por me incentivar a fazer o que eu sempre quis e seu apoio. A minha querida afilhada Dudinha que foi compreensiva nos meus estudos.

Não poderia deixar de fora meus avós que sempre estiveram ao meu lado me apoiando, dando atenção e carinho nessa luta. Amo vocês dois: Thereza e Miguel Coutinho!

Aos meus companheiros de estudo, Snoopy e Dolly (*in memoriam*), que muitas vezes estiveram perto de mim nas noites de estudo, chegando até ser meus cobaios. Amor maior não há por vocês meus cachorrinhos.

Aos que me ensinaram o que eu sei hoje. Aos meus professores, por todos os conhecimentos que me ajudaram a construir. Em especial, aos queridos: Fábio Tonissi Moroni e orientador Fábio Souza, obrigada pelos ensinamentos e por terem me feito enxergar com mais amor a profissão, que escolhi. E ao meu supervisor de estágio Leonardo, por sua atenção, dedicação e apoio nas horas de agonia.

Enfim, aos meus amigos, que estiveram me apoiando, direta ou indiretamente, vocês fizeram a minha vida acadêmica dias mais felizes.

RESUMO

O controle sanitário dos animais de laboratório é fundamental para a credibilidade das pesquisas realizadas. O controle parasitológico é o primeiro passo para implementar o controle sanitário efetivo dos animais alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), reduzindo fatores intervenientes nas pesquisas experimentais que façam uso de modelos animais. O objetivo do presente estudo foi detectar a ocorrência de endo e ectoparasitos em ratos (*Rattus norvegicus*) utilizados em biotério. Foram realizadas a colheita de ectoparasitos nos pelos dos animais e pesquisa de endoparasitos nas fezes e mucosa intestinal dos ratos. Duas amostragens semanais foram realizadas utilizando 16 ratos Wistar, em cada, sendo: três animais recém desmamados, oito animais adultos jovens e cinco animais com mais de seis meses. Os ratos foram transportados em gaiolas e foi realizada a eutanásia. Ectoparasitos (piolhos e ácaro) foram diagnosticados através de exame direto das carcaças e identificados por meio de microscopia óptica das peles recolhida das regiões cervical e dorsal. Fezes foram coletadas diretamente na mucosa anal para evitar a contaminação por impurezas. O exame parasitológico e a investigação direta da mucosa intestinal foram manipulada no máximo em quatro horas, assim foi realizada homogeneização em água 12mL. Em seguida, o material foi coado em filtro de gaze dupla, centrifugado por 10 minutos e colocado solução de flutuação para centrífuga por 10 minutos e visualização microscópica. Observou-se que os ectoparasitos que mais prevaleceram foi o *Chirodiscoides cavie* (68, 75%), seguido de *Myobia musculi*, (56, 25%), *Poliplax serrata e Radfordia affinis* com taxas de prevalência (12, 5%) e *Myocoptes musculinus* com (18,75%). Com relação aos endoparasitos constatou-se *Hymenolepis nana* (56, 25%) seguidos de *Syphacia obvelata* (50%), *Aspiculuris tetraptera* (31, 25%), tanto *Hymenolepis diminuta* quanto *Nippostrongylus brasiliensis* (12, 50%) e *Balantidium caviale e Eimeria* (6, 25%). *Chirodiscoides cavie* foi a espécie mais prevalente nos ratos, com 68, 75% de animais positivos.

Palavras-chave: Parasitismo. Infestações. Diagnóstico parasitológico.

ABSTRACT

Sanitary control of laboratory animals is essential to the credibility of research. Parasite control is the first step in implementing effective sanitary control for animals housed at the Central Animal Facility of the Federal University of Amazonas (UFAM), reducing intervening factors in experimental research involving animal models. The aim of this study was to detect the occurrence of endo-and ectoparasites of rats (*Rattus norvegicus*) used in the rats housed in the UFAM Central Animal Facility. Ectoparasites were collected from the skin and endoparasites were investigated in the feces and intestinal mucosa of the rats. Two samples per week were conducted on 16 Wistar rats: three newly weaned, eight young adult females, and five over six months-old. The rats were transported in cages and euthanized. Ectoparasites (lice and mites) were diagnosed by direct examination of carcasses and identified by optical microscopy of the skin collected from the cervical and dorsal regions. Feces were collected directly from the anal mucosa to prevent contamination by impurities. Parasitological examination and direct investigation of the intestinal mucosa were performed within 4 h. Homogenization was achieved in 12 ml of water. Next, the material was sieved through a double gauze filter, centrifuged for 10 min, floating solution was added and the mixture was centrifuge for 10 min, followed by microscopic observation. Observation revealed that the most prevalent ectoparasite was *Chirodiscoides cavie* (68, 75%), followed by *Myobia musculi* (56, 25%), *Poliplax serrata* and *Radfordia affinis* with prevalence rates of (12, 5%) and *Myocoptes musculus*, with (18, 75%). Regarding endoparasites, *Hymenolepis nana* (56, 25%) was the most prevalent, followed by *Syphacia obvelata* (50%), *Aspiculuris tetraptera* (31, 25%), *Nippostrongylus brasiliensis* and *Hymenolepis diminuta* (12, 50%) and *Balantidium caviale* and *Eimeria* (6, 25%). *Chirodiscoides cavie* was the most prevalent species identified, proving positive in 68, 75% of the rats.

Keywords: Parasitism. Infestations. Parasitological diagnosis.

SUMÁRIO

	Página	
1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	Ectoparasitos	12
2.1.1	Piolhos	12
2.1.2	Pulgas	12
2.1.3	Ácaros	12
2.2	Endoparasitos	13
2.2.1	Nematódeos	13
2.2.2	Cestódeos	14
2.2.3	Protozoários	14
2.2.4	Coccídios	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	Tipo do Estudo	16
3.2	Local da Coleta e Animais	16
3.3	Material	17
3.4	Metodologia	17
3.4.1	Protocolo de eutanásia	17
3.4.2	Coleta e identificação de ectoparasitos	17
3.4.3	Coleta e identificação de endoparasitos intestinais a partir de amostras fecais	18
3.5	Princípios Éticos da Experimentação Animal	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1	Observação de Ectoparasitos	21
4.2	Observação de Endoparasitos	23
5	CONCLUSÕES	26
	REFERÊNCIAS	27
	ANEXOS	30
	A –Técnica de Sheather (modificada) (SHEATHER, 1923) para centrífugo-flutuação	31
	B –Aprovação pelo comitê de Ética em experimentação animal da UFAM do projeto de pesquisa. Protocolo de número 063/2011.	32

1 INTRODUÇÃO

Os roedores são os animais mais utilizados pelas pesquisas científicas em diferentes áreas. Esses animais podem sofrer alterações das mais diferentes possíveis, tais como influências ambientais, fisiológicas além de doenças por agentes infecciosos. Dessa maneira, as pesquisas que envolvem animais de experimentação necessitam que os mesmos reúnam condições ideais e que sejam mantidos em ambientes controlados para que atendam aos parâmetros de qualidade sanitária e genética.

Os trabalhos desenvolvidos por experimentos com animais podem ser influenciados em razão das condições de cada espécie utilizada. Assim, se houver uma maior equidade dos animais em relação às variáveis ambientais, genéticas e experimentais, menor será o número de animais adquiridos para a pesquisa a ser realizada podendo estes, serem classificados quanto ao status ou condição sanitária, genotípica, por exemplo.

Um dos fatores que podem influenciar nos resultados de pesquisas experimentais é a presença de parasitos nos animais, aumentando a variabilidade dos dados e diminuindo a precisão das análises. Portanto, o controle de parasitos sejam eles internos ou externos ao animal é fundamental para que os dados obtidos nos experimentos realizados *in vivo* sejam confiáveis.

Além disso, vale ressaltar que os biotérios convencionais é muito comum os animais apresentarem parasitos.

O objetivo do presente estudo foi de detectar a ocorrência de endo e ectoparasitos de ratos (*Rattus norvegicus*) utilizados em um biotério convencional.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A evolução das ciências biológicas e área médica está intimamente ligada à pesquisa experimental utilizando modelos animais. Nas pesquisas experimentais os animais de laboratório são considerados como reagentes biológicos, essenciais para a compreensão dos eventos biológicos em ambientes complexos. Nas ciências biomédicas permitem o melhor conhecimento da fisiologia, da etiopatogenia das doenças, da ação de medicamentos ou dos efeitos das intervenções cirúrgicas. Sua maior importância está relacionada ao respeito à barreira ética de não intervenção primária experimental em *anima nobile*. Nesse sentido, o modelo experimental deve ser funcionalmente, o mais semelhante possível ao que se objetiva estudar (FERREIRA; 2003; HOCKMAN et al., 2004).

Os animais de laboratório, não devem ser utilizados como simples “instrumentos de trabalho”, sem levar em consideração sua condição sanitária e genética. Com o avanço da ciência, essas condições tornaram-se exigências, levando à criação de uma autêntica especialidade, a “Ciência em animais de laboratório” (FERREIRA et al., 2005).

Atualmente, os pesquisadores exigem que esses animais reúnam condições ideais, e que sejam mantidos em ambiente controlado para que atendam aos parâmetros de qualidade sanitária e genética, uma vez que são reagentes biológicos, e os resultados dos experimentos podem ser afetados em razão das condições de cada espécie utilizada. Ainda, quanto maior a uniformidade dos animais em relação às variáveis ambientais, genéticas e experimentais, menor será a quantidade mínima de animais necessários para a pesquisa ser realizada. Assim, os animais utilizados em experimentação podem ser classificados quanto ao status ou condição sanitária, genotípica e como modelo experimental (ANDRADE, 2002).

No que diz respeito a classificação sanitária dos animais de laboratório, podemos destacar da seguinte maneira: Os axênicos, que compreendem os animais totalmente livres de microbiota, criados e mantidos em isoladores evitando-se a contaminação por microorganismos e outras formas de vida associada; os gnotobióticos são os animais que possuem a microbiota associada definida, apresentando uma ou mais formas não-patogênicas de vida associada (são criados e mantidos em isoladores); os SPF (specific pathogen free) que são os animais isentos de organismos patogênicos ou potencialmente

patogênicos que causam doenças clínicas ou subclínicas em determinada espécie animal. Os animais SPF são criados e mantidos em biotérios com rigorosas barreiras sanitárias e/ou micro isoladores para garantir o seu padrão sanitário e por fim os animais convencionais que são aqueles que possuem uma microbiota não conhecida tanto patogênica como não patogênica (CARISSIMI; MERUSSE, 2009).

Os animais mais utilizados, atualmente, para a realização de experimentos são o rato (*Rattus norvegicus*) e o camundongo (*Mus musculus*). O rato deriva da Ásia Central e acredita-se que tenha sido a primeira espécie de mamífero utilizada no campo da experimentação, uma vez que se sabe que desde o início do século XX era utilizado em pesquisas nutricionais. Foi difundido pelo pesquisador Henry H. Donaldson e sua equipe, que formaram linhas consanguíneas de ratos como as linhagens PA, Lewis e o Brown Norway, sendo nesta mesma época que houve a formação de outra linhagem, a Wistar (CONKLIN, 1938).

A biologia dos ratos, assim como a dos camundongos, propicia o uso desses animais para a experimentação. O rato tem um corpo fusiforme e uma cauda que pode chegar a medir mais que o próprio corpo. Apresenta patas com cinco dedos e não possui glândulas sudoríparas e vesícula biliar. Tem um período de gestação de 19 a 22 dias, com uma média de oito filhotes, podendo ser encontradas ninhadas com um número de 16 filhotes. Os machos adultos podem pesar de 500g a 600g e as fêmeas, de 300g a 400g. Vale ressaltar que um dos fatores que podem influenciar nos resultados de pesquisas experimentais aumentando a variabilidade dos dados é a presença de parasitos nos animais. Em consequência disso, os animais devem ser criados e mantidos sob barreiras sanitárias, com monitoramento periódico. Portanto, o controle de parasitos sejam eles internos ou externos ao animal é fundamental para que os dados obtidos de experimentos realizados *in vivo* sejam confiáveis (ANDRADE, 2002).

O rato pode abrigar uma variedade de parasitos sem deixar evidentes sinais clínicos, no entanto, muitos desses agentes patogênicos naturais desses animais de laboratório pode alterar a fisiologia do hospedeiro, tornando-o inadequado para os usos experimentais (BAKER, 1998).

2.1 Ectoparasitos

2.1.1 Piolhos

Os piolhos são insetos ápteros, de corpo achatado dorso-ventralmente, com todos os ínstares vivendo sobre os hospedeiros (ectoparasitos permanentes). Sendo *Poliplax serrata* parasito de camundongo e *Polyplax spinulosa* parasito de rato. Seu ciclo de vida varia em cerca de 13 dias. Apresenta coloração amarelada com traços marrons, provocam coceira no animal além de transmitir os hemoparasitos denominados *Eperythrozoon coccoides* e *Francisella tularensis* (MARQUES; CRUZ, 2009).

2.1.2 Pulgas

A metamorfose das pulgas é completa e os estágios vitais consistem em ovo, larva, pupa e adulto. *Xenopsylla cheopis*. parasita ratos, tem ampla distribuição geográfica, e pode atacar seres humanos sendo vetores importantes da peste bubônica (*Yersina pestis*) e do tifo murina em humanos (*Rickettsia typhi*) (BOWMAN, 2010).

2.1.3 Ácaros

Os ácaros mais encontrados nos biotérios são *Myobia musculi* comum em colônias de camundongos, ratos e hamsters convencionais. Estão associados à alopecia e dermatites, podendo realizar ulcerações da pele e pioderma; alimentam-se de secreções dos folículos pilosos, sendo a hematofagia pouco comum. Realizam todo o ciclo sobre o hospedeiro e a passagem de um para o outro hospedeiro acontece por contato direto entre os hospedeiros através de substrato dos ninhos (MARQUES; CRUZ, 2009). *Radfordia ensifera* ataca os ratos causando alopecia e eritema da região dorsal do pescoço, em casos graves caracterizam-se por escoriações e auto-infligidas. O estresse da superpopulação é frequentemente o responsável por converter uma infestação assintomática de ácaros que se fixam aos pelos em surto de dermatopatia severa (BOWMAN, 2010).

Um parasito muito comum em camundongos são *Myocoptes musculinus* ocorrendo em alguns casos, nas colônias de ratos, determinando a sarna miocóptica. Este ácaro permanece durante todo o seu ciclo evolutivo preso aos pelos e se alimentando dos mesmos, seu contato é direto. Outro ectoparasito que pode causar pouco ou nenhum sinal clínico nos animais infestados é *Chirodiscoide* sp. Estes ácaros são transmitidos por contato direto com o animal hospedeiro, cama, ou pelos e detritos. Já o ácaro *Chirodiscoide cavie* ele é bastante comum em pelagem de cobaias (MARQUES, 2002).

2.2 Endoparasitos

2.2.1 Nematódeos

Syphacia sp. são nematódeos pertencentes a Família Oxyurida e encontrados no ceco e intestino grosso de ratos. Seus ovos são identificados em exames de flutuação fecal. Uma vez ingeridos com as fezes, os ovos eclodem no intestino delgado e ceco dentro das primeiras duas horas, tendo sua fase adulta ainda no ceco. *S. obvelata*, ovipõe aproximadamente 350 ovos e *S. muris*, 450 a 550 por fêmea. O ciclo de vida completo é de 12 dias para *S. Obvelata* e sete a oito dias para *S. Muris*. A larva de *S. muris* é semelhante *S. obvelata*, ocorrendo frequentemente em colônias convencionais de ratos (MARQUES; CRUZ, 2009).

Outro neomatódeo comum é *Spiroucleus muris* parasito intestinal unicelular, flagelado que habita o intestino delgado, tem demonstrado interferir nas pesquisas. Apresenta aspecto periforme com simetria bilateral, além de ter ciclo biológico direto e sua divisão se dá por divisão longitudinal binária (SCHAGEMANN et al., 1990)

Endoparasito pertencente à ordem Ascarida, pertencentes a Família Oxyridae, é *Aspiculuri* sp. encontrado no ceco e cólon de camundongos, ratos e hamsters. *Aspiculuri tetraptera* é um parasito não patogênico, apresenta ciclo biológico direto, ovos eliminados nas fezes e a infecção ocorre quando ovos embrionados são ingeridos (MARQUES; CRUZ, 2009).

2.2.2 Cestódeos

O mais frequente *Hymenolepis* sp., geralmente não causa alterações no animal, mas, às vezes, devido a altas infecções ocorrem patogenias ligadas a sua presença no intestino dos roedores e humanos. Pode ocasionar perda de peso e baixa absorção nutricional. A espécie *H. diminuta* requer um hospedeiro intermediário, já *H. nana* é um cestoda de importância para saúde pública. Encontra-se na classe de risco 2, proporcionando moderado risco individual e limitado risco para a comunidade (MARQUES; CRUZ, 2009).

2.2.3 Protozoários

Protozoário pertencente à classe sarcodina, Família Entamoebida que acomete é *Entamoeba muris*. Uma espécie comensal não patogênica comumente encontrada no ceco e colón de camundongos, ratos e hamsters em animais de ambientes convencionais. Sua transmissão ocorre pela ingestão de cistos presentes em material contaminado por fezes (MARQUES, 2002; BOWMAN, 2010).

Outro protozoário, porém flagelado, pertencente à família Hexamitidae, subfamília Giardina e *Giardia* sp. apresenta forma de trofozoíto com aspecto piriforme, dois núcleos, quatro pares de flagelos. Este gênero habita o intestino delgado de roedores e de outras diferentes espécies de animais. O parasito se liga às células epiteliais da mucosa intestinal por meio de um disco suatorial (URQUHART et al., 1998). A espécie *Giardia muris* pode infectar camundongos, ratos e hamsters. A infecção geralmente é subclínica, entretanto, podemos observar que os animais apresentam perda de peso, pelos eriçados e distensão abdominal com intensa produção de gases. *G. muris* apresenta ciclo biológico direto e a transmissão se dá por ingestão de cistos e induz a alterações nos níveis de dissacarídeos intestinais (DANIELS; BELOSEVIC, 1992; DANIELS; BELOSEVIC, 1995).

Pode-se destacar outro parasito flagelado não patogênico, *Tritrichomonas muris*, que habita o ceco e colo de ratos. Em grande quantidade pode ocasionar diarreia no hospedeiro, seu ciclo biológico é simples e direto. O trofozoíto é eliminado com as fezes, dificilmente formando cisto (MARQUES, 2002).

Um outro parasito pertencente a Classe Ciliata, aparentemente não-patogênico, habita o ceco e cólon de cobaias mantidos em colônias convencionais é *Balantidium* sp. Trata-se de um protozoário ciliado, comensal do intestino, alimentando-se de amido e bactérias (BOWMAN, 2010).

2.2.4 Coccídios

Muito comum em animais de laboratório *Eimeria* sp., é um coccídio patogênico, pode ser diagnosticado por meio de exame microscópico das fezes. É encontrado no intestino delgado e ceco dos ratos, também sendo diagnosticado por necropsia quando visualizado, através de cortes histológicos de lesões, envolvendo sinais da doença. É de importância clínica, pois pode causar colite com diarreia, hemorragia e erosões no epitélio intestinal com grande comprometimento da integridade do trato digestivo (MARQUES; CRUZ, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo do Estudo

Tratou-se de um estudo descritivo baseado em um inquérito parasitológico. O período do estudo foi de Janeiro a Maio de 2014. Realizou-se uma coleta levando-se em consideração as recomendações da Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA, 2014).

3.2 Local de Coleta e Animais

A coleta e análise das amostras foram realizadas no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas. O Biotério possui instalação mista, ou seja, área de experimentação e criação. Em relação às características construtivas, o prédio era de único piso, de paredes lisas e de cantos arredondados na união das paredes, não existia janelas, mas havia aberturas dando acesso a área externa devido ao tipo de exaustor e ao ar condicionado que era de janela. Existia uma porta de saída pela experimentação que apresentava aberturas podendo passar insetos.

As gaiolas dos animais eram de material de plástico com arame de inox, com cama feita de maravalha, bebedouro e a ração, sem condições controladas, sistema aberto. Não possuía nenhuma rack ventilada, nem fluxo de troca, eram colocadas em estantes. Possuía um freezer para o descarte dos animais. O sistema de troca ocorria duas vezes por semana, os materiais não eram autoclaváveis, os manipuladores, bem como os usuários ao entrar utilizavam os EPIs necessários luvas, touca, propés, avental e máscara. Além de não possuir autoclave de dupla porta e cabine de descarte.

Foram utilizados 16 ratos (*Rattus norvegicus*) destinados a procedimentos de experimentação da universidade, sendo divididos em três perfis: um perfil com três animais recém-desmamados; um segundo com oito animais adultos jovens de idade entre 10-14 semanas e o terceiro com cinco ratos de seis meses ou mais de idade, matrizes.

3.3 Material

Foram utilizados alguns itens para execução do trabalho como: lápis nº 2, freezer, tubos de plástico de centrífuga de 15mL, luvas de procedimento, avental descartável, touca, propés, máscara, gazes, balança digital, bastão de vidro, backer, pente fino, fita durex, cartolina preta, bálsamo do Canadá, solução saturada de açúcar, centrífuga, papel laminado, lâminas, lamínulas para microscopia, seringa de insulina, quetamina e xilazina, álcool, tesoura ponta fina, pinça dente de rato, bandeja de plástico de polietileno de 2,5 (média) e microscópio óptico binocular (ZEISS®).

3.4 Metodologia

3.4.1 Protocolo de eutanásia

Os animais foram transportados em gaiolas para uma outra sala e realização da eutanásia. Supervisionada e orientada por um médico veterinário responsável com o seguinte protocolo: os animais foram anestesiados com quetamina e xilazina 0,05mg intraperitoneal e 0,03mg intracardíaca, se fosse necessário, nos animais com peso acima de 200g e posteriormente envolvidos com papel alumínio e acomodados no freezer a uma temperatura de -20°C por duas horas.

3.4.2 Coleta e identificação de ectoparasitos

Na sequência, os animais eram retirados do freezer e colocados em cima de uma bandeja branca de plástico e o papel alumínio que estava cobrindo os animais eram cuidadosamente abertos sobre a mesma e os pelos dos animais foram penteado, com pente-fino comercial, no sentido da cabeça para a cauda do animal. Após isso os ectoparasitos que caíram na bandeja foram coletados para tubos de plástico com tampa rosqueável e conservados em 10mL de etanol 95%.

Após a colheita o material foi transferido para uma placa de petri de 20cm de diâmetro. Os parasitos foram separados utilizando um esteromicroscópio no aumento de 0,8x e com aumento de 3,5x quando necessário. Com auxílio de um pipetador automático endorph de 100µL, os ectoparasitos eram retirados da placa e colocados em lâminas de vidro para microscopia, tamanho 26x76mm, previamente identificadas, posicionadas sobre

um agitador magnético com o knob de aquecimento ligado no menor ajuste. Após a evaporação do etanol, foi adicionado 100µL de bálsamo do Canadá sobre os parasitos e coberto por lamínula. Após a secagem do bálsamo as amostras foram observadas em microscopia óptica. Identificação específica teve como base uma análise microscópica morfológica, nos aumentos de 100x e 400x.

Além disso, foi realizado a coleta de parasitos com uma fita adesiva, chamado *tape test*, no qual foram coletados diretamente das carcaças dos animais e identificados por meio de microscopia óptica, nos aumento de 100x e 400x.

As coletas foram realizadas nas regiões cervical, dorsal e anal, bem como foram coletados pelos dos animais e colocados em um pote de plástico estéril com álcool, assim com um pincel de pintura foram retirados os possíveis ectoparasitas, colocados em uma lâmina com bálsamo do Canadá para a fixação dos parasitos com uma lamínula e verificando em seguida no microscópio.

3.4.3 Coleta e identificação de endoparasitos intestinais a partir de amostras fecais

Após a coleta de ectoparasitos, cada animal era necropsiado para observação de suas estruturas internas e a procura de parasitos em órgãos.

A observação por parasitos ou ovos/cistos/trofozoítos foi feita em duas etapas: primeiramente coletaram-se duas porções de fezes sendo uma do intestino delgado outra de fezes encontradas na porção retal amostras fecais para busca ovos/larvas/cistos/trofozoítos de parasitos por microscopia óptica. O procedimento de análise foi executado de duas formas para cada amostra, uma de acordo com o método Sheater (SHEATHER, 1923) (ANEXO A) e outra porção de fezes examinada, por meio da técnica de exame direto, entre lâmina e lamínula, diluídas uma gota de solução salina 0,09%, e inspecionada como descrito por Gilioli (2003). A identificação específica teve como base uma análise microscópica morfológica em aumentos de 100x e 400x (HSU, 1982; OWEN, 1992).

Em um segundo momento, realizou-se o exame macroscópico das vísceras e de fezes, a inspeção desarmada, em fundo negro no intuito de observar a presença de larvas de nematodas e proglotes de cestódeos (Figura1). Nesse exame também foi observado a

consistência e a coloração das fezes; em um segundo momento (WESCOTT, 1982; OWEN, 1992).

Figura 1. Abertura do intestino do rato para visualização de possíveis parasitos.



Fonte: Arquivo pessoal

Para o exame parasitológico de endoparasitos as fezes foram coletados diretamente da mucosa anal evitando impurezas, essas fezes foram armazenadas em um tubo de ensaio de 15mL de plástico estéril contendo 10mL de álcool 70% (Figura 2), em seguida esse material foi homogeneizado em água 12mL para cada três gramas de fezes. Posteriormente foi coado, centrifugado por 10 minutos num tubo de ensaio de 15mL, e foi feito o processo de decantação, solução de flutuação, centrifugação com a lamínula por 10 minutos e em seguida foram visualizadas em microscópio óptico. O exame parasitológico, bem como a investigação direta da mucosa intestinal foram executados no máximo em quatro horas após a necropsia (FOREYT, 2005).

Figura 2. Fezes dos ratos armazenados em tubos de ensaio de 15 mL contendo 10mL de álcool.



Fonte: Arquivo pessoal

3.5 Princípios Éticos da Experimentação Animal

O presente estudo envolveu a utilização de animais, sendo respeitados os princípios éticos de experimentação animal preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), tendo como base maior a lei 11.794, conhecido como a lei Arouca e regulamentada pelo decreto 6.899 para a utilização de animais para pesquisa e aqueles contidos no Decreto nº 24.645, de 10 de julho de 1934 e na Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979 além do disposto na Resolução CFMV nº 879, de fevereiro de 2008.

O projeto deste trabalho foi submetido ao Comitê de Ética no Uso Animal da UFAM, sob o número de protocolo 063/2011, sendo aprovado a sua execução (ANEXO B).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Observação de Ectoparasitos

De acordo com o levantamento realizado de ectoparasitos nas colônias de ratos do Biotério da UFAM, foram observados os seguintes ácaros e piolhos representados na Tabela 1.

Tabela 1. Ocorrência de ectoparasitos em ratos alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas.

Ectoparasitos	Somatória do número de parasitas encontrados nos animais examinados			Total de positivos (%) (1+2+3)/16 x 100
	1- recém-desmamados (n=3)	2- Adultos jovens (n=8)	3- mais de 6 meses (n=5)	
<i>Chirodiscoides cavie</i>	39	92	3	68,75
<i>Myobia musculi</i>	0	9	0	56,25
<i>Poliplax serrata</i>	0	2	0	12,5
<i>Radfordia affinis</i>	0	0	2	12,5
<i>Myocoptes musculinus</i>	2	0	1	18,75

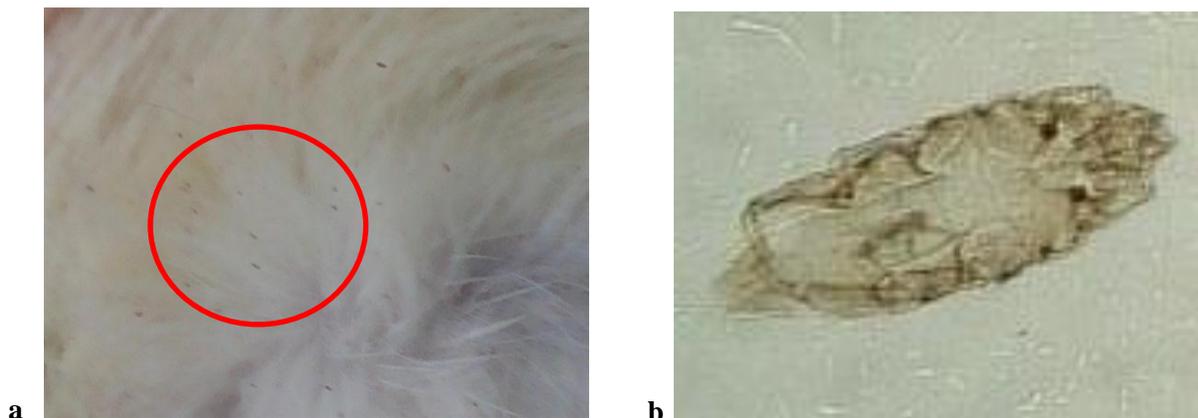
Em relação *Chirodiscoides cavie* (FIGURA 3) foi observada uma grande infestação desses ectoparasitos com uma prevalência de 68,75% do total dos animais analisados. Esse ácaro teve maior ocorrência nos ratos adultos jovens. Esses dados encontrados não são muito comuns em ratos, uma vez que este parasito é muito prevalente em cobaias. Segundo Pereira (2002), são ácaros de cobaias com pouca importância para a saúde do animal, levando-se em consideração que em altas infestações pode causar prurido intenso com presença de alopecia.

Uma explicação para a contaminação por *C. cavie* dos animais foi o fato dos ratos terem sido adquiridos por doação do Biotério de um Instituto de Pesquisa, onde em um período da criação eles podem ter ficado na mesma sala que os cobaias e ter ocorrido a infestação cruzada dos animais.

Os ectoparasitos que são comumente encontrados em animais de laboratório têm sua transmissão realizada diretamente por contato com fômites, ar e até mesmo por quebra das barreiras sanitárias. A contaminação dos animais na área de criação e manutenção pode

acontecer por várias vias de materiais, assim como a mistura de diferentes animais em gaiolas, salas ou áreas facilitará a infestação de doenças parasitárias (KO; DAMY, 2009).

Figura 3. Ocorrência de *Chirodiscoides cavie* em ratos alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas. Em “a” parasito aderido a pelagem de rato e em “b” visualização ao microscópio óptico em aumento de 40x.



Foi observada uma ocorrência de 56,25% de parasitos da espécie *Myobia musculi*, somente nos animais adultos jovens, esses dados corroboram com a afirmação de Marques e Cruz (2009) que esses ácaros são comumente encontrados em camundongos, ratos e hamsters de biotérios convencionais.

O piolho *Poliplax serrata* foi constatado nos animais adultos jovens obtendo 12, 5% esses dados são semelhantes aos encontrados por Gilioli (2003) em sua pesquisa para tese de doutorado realizado um questionário para dezoito Biotérios de instituições brasileiras, uma vez que o mesmo encontrou 10% desses ectoparasitos nos animais. Bem como foi analisado nas amostras a presença da espécie *Radfordia affinis* com 12, 5% dos ratos infestados, sendo esses resultados parcialmente semelhantes aos levantados por Gilioli (2003) e por Bicalho et al. (2007), no qual obteve, respectivamente os percentuais de 13,3% e 15,4% dessa mesma espécie.

Os resultados encontrados ao respectivo parasito *Myocoptes musculinus* mostraram 18, 75% de ocorrência, nos resultados encontrados por Bicalho (2007), estes parasitos apresentam uma alta taxa em ambientes convencionais.

As colônias de animais de laboratórios podem sofrer severamente com os ácaros. Os sinais clínicos podem estender-se de uma leve alopecia, vermelhidão na pele ao extremo prurido, bem como auto escoriação e uma profunda ulceração na pele, tornando-se uma

infecção secundária em alguns casos. Podem induzir uma reação alérgica lesionando a pele (MAHLER et al., 2014).

4.2 Observação de Endoparasitos

Em um segundo momento foi realizado a observação dos endoparasitos nos animais, esses encontram se dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Ocorrência de helmintos, em ratos alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas.

Endoparasitos	Somatória do número de parasitas encontrados nos animais examinados			
	1- recém-desmamados (n=3)	2- Adultos jovens (n=8)	3- mais de 6 meses (n=5)	Total de positivos (%) (1+2+3)/16 x 100
<i>Syphacia obvelata</i>	5	1	2	50,0
<i>Aspicularis tetráptera</i>	4	0	1	31,25
<i>Hymenolepis nana</i>	1	2	6	56,25
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2	0	0	12,5
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	0	2	0	12,5
<i>Balantidium caviale</i>	0	1	00	6,25

Na análise, os resultados revelaram a presença de vários tipos de helmintos, tais como *Syphacia. obvelata* com uma prevalência de 50% de infecção, principalmente nos animais recém-desmamados. Isso corrobora com o levantamento de Carvalho et al. (2009) ao relatar que observou ovos embrionados, assimétricos, de aspecto retilíneo, característico de *Syphacia* sp. uma vez, que este parasito habita o ceco dos ratos. Existem relatos que *S. obvelata* induz a artrite e interfere no transporte de eletrólitos no intestino segundo Lubcke et al. (1992). Além disso, *Syphacia muris*, em ratos e *S. obvelata* em camundongos, aumentam a suscetibilidade do hospedeiro (PEARSON; TAYLOR, 1975)

E os dados de Gilioli (2003) no qual encontrou 86,6% desses parasitos *S. obvelata* nos animais, no total de treze biotérios, das dezoito instituições que foram pesquisadas.

Segundo Baker (1998) ratos que apresentem imunodeficiência e possuem *S. muris* poderiam desenvolver doenças clínicas, apresentando diarreias, desidratação, perda de peso, abdômen distendido podendo chegar ao óbito.

Também foi observado o helminto *A. tetráptera* com uma percentagem de 31, 25 presente em sua maioria em recém-desmamados. Os resultados encontrados foram semelhantes aos observados por outros autores como Linardi et al. (1984), Yoshizawa et al. (1996) e Bicalho et al. (2007). Existem casos que os animais com alta parasitemia podem desenvolver prolapso retal, intussuscepção e impactação fecal (BAKER, 1998).

Outro resultado positivo de parasitos foi a presença de *Hymenolepis nana*, e *H. diminuta* com um elevado grau de parasitemia, esses dados estão de acordo com os de Carvalho et al. (2009), no qual revelou três tipos de ovos característicos desses cestódeos. Segundo Marques (2002) o animal ao apresentar um elevado grau de parasitos, poderá ter consequências graves, como perda de peso, bem como baixa absorção nutricional. É importante abordar que *H. nana* é um organismo de importância para saúde pública, considerado de risco 2 (MARQUES, 2009).

Segundo os estudos realizados por Gilioli (2003), os dados de questionários respondidos por responsáveis por biotérios de várias instituições brasileiras mostraram que a maioria dos biotérios analisados não possuía um sistema de barreiras sanitárias eficiente capaz de manter animais sob condições sanitárias controladas, por isso a infecção por parasitos são generalizadas em colônias nos animais dos biotérios analisados.

Outra espécie encontrada foi *B. caviale*, embora em pouca quantidade 6,25% o mesmo é bastante comum nesses laboratórios.

Tabela 3. Ocorrência de protozoários em ratos alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas.

Protozoários	1- recém-desmamados (n=3)	2- Adultos jovens (n=8)	3- mais de 6 meses (n=5)	Total de positivos (%) (1+2+3)/16 x 100
<i>Hemastix muris</i>	1	0	0	6,25
<i>Entamoeba muris</i>	1	1	4	37,5
<i>Spiroucleus muris</i>	0	3	0	18,75

A presença de *Spiroucleus muris*, em 18,75% dos animais adultos jovens (TABELA 3). Esse nematódeo é muito comum e tem demonstrado interferir nas pesquisas de várias formas, como aumento na severidade de infecções co-patogênicas, aumento na mortalidade associada aos tratamentos com cádmio, alterações nas funções macrofágicas e

linfocíticas nos animais estimulados com toxina tetânica, eritrócitos de ovelhas e mitógenos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1991).

Outro achado observado foi *Entamoeba muris*, que apresentou positividade em todas as idades investigadas num total de 37, 5%, há pesquisas que confirmam a presença dessa espécie na qual demonstra uma prevalência de 5 a 55% nos ratos, levando-se em consideração o apontamento de falta de sanidade no local devido a presença dessa espécie segundo relatos de Mahler et al. (2014).

Tabela 4. Ocorrência de coccídios, em ratos alojados no Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas.

Coccídios	1- recém-desmamados (n=3)	2- Adultos jovens (n=8)	3- mais de 6 meses (n=5)	Total de positivos (%) (1+2+3)/16 x 100
<i>Eimeria</i> sp.	0	1	0	6,25

No que se refere aos resultados do parasita *Eimeria* sp. houve pouca ocorrência, não menos importante, uma vez que este se encontra presente em animais de laboratório, podendo causar enterites e o óbito (MAHLER et al., 2014)

Todos achados relatados tanto por ecto e endoparasitos são generalizados nas colônias e a associação de infecções múltiplas um fator comum em grande parte dos animais dos biotérios existentes. Portanto todos os ectoparasitos relatados até o presente momento corroboram com os dados de Bicalho et al. (2007) que estudaram 13 biotérios de instituições públicas do estado de Minas Gerais e observaram 111 ratos, no qual apresenta os seguintes espécies em ratos *Poliplax spinulosa* (8, 1%), *Syphacia muris* (46, 2%), *Spironucleu smuris* (85, 7%), *Hexamastix muris* (14, 3%) e *Entamoeba muris* (85, 7%) *Myobia musculi* (23, 1%), *Myocoptes musculinus* (38, 5%), *Radfordia affinis* (15, 4%), *Syphacia obvelata* (92, 3%), *Aspicularis tetraptera* (23, 1%) e *Hymenolepis nana* (15, 4%).

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

Os ratos do biotério da UFAM apresentaram ecto e endoparasitos diversos e semelhantes a outras unidades de criação com padrão sanitário convencional;

Foram detectados os seguintes ectoparasitos *Chirodiscoides cavie*, *Myobia musculi*, *Poliplax serrata*, *Radfordia affinis* e *Myocoptes musculinus*. Sendo o *C. cavie* o mais prevalente, com 68,75% de positividade;

Foram detectados os seguintes endoparasitos *Syphacia obvelata*, *Aspicularis tetráptera*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Nippostrongylus brasiliensis*, *Balantidium caviale*, *Hemastix muris*, *Entamoeba muris*, *Spirostrongylus muris* e *Eimeria* sp. Sendo o *H. nana* o de maior ocorrência nos ratos com 56,25%.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. O Bioterismo: evolução e importância. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Editores. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p. 19-22, 2002.
- ANDRADE, A. Fatores que influenciam no resultado do experimento animal. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Editores. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p. 289-294, 2002.
- ALVES, D. P. et al. *Gnotobiologia*. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Editores. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p. 211-224, 2002.
- BAKER, D. G. Natural Pathogens of Laboratory Mice, Rats, and Rabbits and Their Effects on Research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 231-266, 1998.
- BICALHO, K. A. et al. Sanitary profile in mice and rat colonies in laboratory animal houses in Minas Gerais: I - Endo and ectoparasites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1478-1484, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v59n6/20.pdf>>. Acesso em: 3 dez. 2013.
- BOWMAN, D. D. **Parasitologia Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora: Elsevier, 2010
- CARISSIMI, A. S.; MERUSSE, J. L. B. Inter-relação do desenho arquitetônico. In: LAPCHIK, V, B, V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. Editores. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Editora Atheneu. p. 73-85, 2009.
- CARVALHO, G. D. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p.51-57, 2009.
- CONKLIN, E. G. **Biographical Memoir of Henry Herbert Donaldson 1857-1938**. National Academy of Sciences of the United States of America. Biographical Memoirs, volume XX Eighth Memoir, p. 229-243, 1938.
- DANIELS, C. W.; BELOSEVIC, M. Disaccharidase activity in the small Intestine of susceptible and resistant mice after primary and challenge Infections with *Giardia muris*. **American Journal Tropical Medicine Hygien**, v. 46, p. 382-390, 1992.
- DANIELS, C. W.; BELOSEVIC, M. Comparison of the course of infection with *Giardia muris* in male and female mice. **International Journal of Parasitology**, v. 25, p. 131-135, 1995.

FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATIONS (FELASA). **Recommendations for the health monitoring mouse, rat, hamsters, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units.** London: FELASA, 2014. Disponível em: <<http://www.radil-llc.com/docs/FELASA-ICLAS2007>>. Acesso em: 15 fev. 2014.

FERREIRA, L. M.; FERREIRA, L. R. K. Experimental model. Historic and conceptual revision. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, p. 1-3, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/acb/v18nspe/v18nspe01.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2010.

FERREIRA, L. M. et al. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, (Supl. 2), p. 28-34, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/acb/v20s2/v20s2a08.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2013.

FOREYT, W. J. **Parasitologia Veterinária: manual de referência.** 5 ed. São Paulo: Editora Roca, 2005. 240p.

GILIOLI, R. **Avaliação do perfil sanitário de colônias de camundongos e de ratos em biotérios brasileiros:** ocorrência de bactérias, parasitas e vírus murinos. 138f. 2003. Tese (Doutorado), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2003.

HOCHMAN, B. et al. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, (Supl. 1), p. 69-78, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/acb/v20s2/v20s2a08.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2013.

HSU, C-K. Protozoa. In: FOSTER, H. L.; SMALL, J. D.; FOX, J. G (Editores). **The Mouse in biomedical research:** diseases. New York: Academic, v. 2, p. 358-372. 1982.

KO, G. M.; DAMY, S. B. Controle do Macro e do Microambiente. In: LAPCHIK, V, B, V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. Editores. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório.** São Paulo: Editora Atheneu. p. 273-293, 2009.

LINARDI, P. M. et al. Sobre alguns ectoparasitos de roedores silvestres de Belo Horizonte, MG. **Revista Brasileira de Biologia**, n. 44, p. 215-219, 1984.

LUBCKE, R. et al. O Impaired intestinal Electrolyte transport in rats infested with the common parasite *Syphacia muris*. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 37, n. 1, p. 60-64, 1992.

MAHLER, M. et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. **Lab Anim Published.** Disponível em: <<http://lan.sagepub.com/>>. Acesso em: 18 abr. 2014.

MARQUES, T. Controle Parasitológico. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. Editores. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p.303-315, 2002.

MARQUES, T.; CRUZ, R. J. Controle Parasitológico. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. Editores. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Editora Atheneu. p. 337-357, 2009

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Infectious diseases of mice and rats: a Report of the Institute of Laboratory Animal Resources Committee on Infectious Diseases of Mice and Rats**. National Academy Press, Washington, D.C. 1991.

OWEN, D. G. **Parasites of laboratory animals**. Laboratory Animals Handbooks, n. 12. London: Royal Society of Medicine Services Limited, 1992.

PEARSON, D. J.; TAYLOR, G. The influence of the nematode *Syphacia obvelata* on adjuvant arthritis in rats. **Immunology**, v. 29, p. 391-396, 1975.

SHEATHER, L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by flotation technique. **Journal of Comparative Pathology**, v. 36, p. 266-275, 1923.

SCHAGEMANN, G. et al. Host specificity of cloned *Spiroplasma smurisi* in Laboratory rodents. In *Lab Anim*, 1990.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, p. 47-117, 1996.

WESCOTT, R. B. Helminths. In: FOSTER, H. L.; SMALL, J. D.; FOX, J. G. (Eds). **The mouse in biomedical research: diseases**. New York: Academic, v. 2. p. 372-384, 1982.

YOSHIZAWA, M. A. C. et al. Ectoparasitos de *Rattus norvegicus* no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, n. 1, p. 39-42, 1996.

ANEXOS

ANEXO A – Técnica de Sheather (modificada) (SHEATHER, 1923) para centrífugo-flutuação.

ANEXO B– Aprovação pelo comitê de Ética em experimentação animal da UFAM do projeto de pesquisa. Protocolo de número 063/2011.

ANEXO A – Técnica de Sheather (modificada) (SHEATHER, 1923) para centrífugo-flutuação.

FUNDAMENTO: Centrífugo-flutuação de possíveis estruturas parasitárias por solução de glicose de densidade de 1.235 a 1.500.

INDICAÇÃO PRINCIPAL: Ovos leves, larvas e cistos onde se destaca a grande sensibilidade para cistos extremamente leves como os de *Cryptosporidium parvum*.

PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Homogeneizar as fezes com aproximadamente 10 volumes de água;
2. Filtrar passando por gaze dobrada 4 vezes em funil pequeno sobre tubo de centrifuga até pouco menos da metade do tubo, completando com água;
3. Centrifugar a 2500 R.P.M. por 2 min e decantar;
4. Desprender o material do fundo do tubo por batidas com a lateral dos dedos e colocar até aproximadamente o meio do tubo, solução de glicose de densidade entre 1.235 -1.500;
5. Centrifugar a 2000 a 2.500 R.P.M. por 1 minuto;
6. Retirar com cuidado a película superficial com alça de platina;
7. Colocar 4 a 5 porções da película em lâmina;
8. Examinar em objetiva de pequeno aumento (aproximadamente 10x) e em caso de campo suspeito utilizar a de médio aumento (aproximadamente 40x).

ANEXO B– Aprovação pelo comitê de Ética em experimentação animal da UFAM do projeto de pesquisa. Protocolo de número 063/2011.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA-UFAM)

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº 063/2011- CEEA, sobre “DETERMINAÇÃO DA TAXA DE PREVALÊNCIA DE ECTOPARASITOS E ENDOPARASITOS NOS RATOS DO BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS” sob responsabilidade de **Andressa Karina Ramos Leitão**, está de acordo com a legislação Federal pertinente ao uso científico de animais e foi **APROVADO** pelo COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA-UFAM).

Manaus, 29 de novembro de 2011

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fábio Tonissi Moroni'.

Prof. Fábio Tonissi Moroni
Presidente da CEEA-UFAM