

# Ciência Atual

Revista Científica  
Multidisciplinar das  
Faculdades São José

2018

Volume 12 | Nº2



FACULDADES  
SÃO JOSÉ

ISSN 2317-1499

# ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO EM UMA COLÔNIA DE CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER CONTAMINADOS COM VÍRUS DA ENCEFALOMIELEITE MURINA DE THEILER (TMEV)

ANALYSIS OF THE BIOCHEMICAL PROFILE IN A COLONY OF SWISS WEBSTER MICE  
CONTAMINATED WITH THEILER'S MURINE ENCEPHALOMYELITIS VIRUS (TMEV)

---

## **THAINARA RAMOS PINTO**

Graduada em Ciências Biológicas (Licenciatura) pela Faculdade São José - bolsista do Instituto de Ciência e Tecnologia em biomodelos (FIOCRUZ)

## **RICARDO ALEXANDRE DOS SANTOS**

Bacharel em Ciências Biológicas pela Fundação técnico-educacional Souza Marques - Bolsista do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (FIOCRUZ)

## **SIMONE RAMOS**

Mestre em Microbiologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Vice diretora de qualidade e laboratórios do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (FIOCRUZ)

## **ALINE MIRANDA SCOVINO**

Mestre em Ciências Biológicas – Professora das Faculdades São José (FSJ/RJ)

## **CLEBER HOOPER**

Mestre em Toxicologia pela Escola Nacional de Saúde Pública pela Fundação Oswaldo Cruz (ENSP-FioCruz) - Biotecnologista em Biomanguinhos/ICTB

## RESUMO

Atualmente, a ciência de animais de laboratório representa um campo de evolução contínua sob aspecto biotecnológico, para que isso ocorra, é necessário haver barreiras sanitárias adequadas, mantendo sempre a integridade sanitária dos animais que são criados em colônias biologicamente protegidas. Dentro da gama de patógenos que podem acarretar transtornos em pesquisas clínicas, temos o Vírus da Encefalomielite Murina de Theiler (TMEV), que foi primeiramente descrito na década de 30 por Max Theiler. Este vírus entérico acomete a parte intestinal do organismo, podendo também replicar-se em outros tecidos como o fígado, baço e sistema nervoso central. O objetivo do presente trabalho consiste em determinar possíveis indicadores bioquímicos que corroboram com o desequilíbrio fisiológico em casos de contaminação do vírus. A metodologia consistiu na utilização de 54 amostras de soro de camundongos Swiss Webster entre dois e três meses de idade. Foram analisados parâmetros como: Uréia, Creatinina, Albumina, Globulina, Aspartato aminotransferase, Alanina aminotransferase, Ácido úrico, Lactato desidrogenase, Proteínas totais, Fosfatase alcalina e Colesterol. Observou-se então que alguns parâmetros encontravam-se tanto com valores superiores quanto inferiores comparados ao valor de normalidade de camundongos saudáveis. Desta maneira, com o presente estudo, poderá também ser possível desenvolver protocolos paralelos de maior especificidade na detecção do vírus, como a implementação de um novo diagnóstico analítico confirmatório.

**Palavras-Chave:** Encefalomielite, camundongos Swiss Webster, parâmetros bioquímicos, Theiler.

## ABSTRACT

At present, the science of laboratory animals represents a field of continuous evolution under biotechnological aspect, for that to happen, it is necessary to have adequate sanitary barriers, always maintaining the sanitary integrity of the animals that are raised in biologically protected colonies. Within the range of pathogens that can lead to disorders in clinical research, we have the Theiler Murine Encephalomyelitis Virus (TMEV), which was first described in the 1930s by Max Theiler. This enteric virus affects the intestinal part of the organism and can also replicate in other tissues such as the liver, spleen and central nervous system. The objective of the present work is to determine possible biochemical indicators that corroborate the physiological imbalance in cases of virus contamination. The methodology consisted of the use of 54 serum samples from Swiss Webster mice between two and three months of age. The following parameters were analyzed: Urea, Creatinine, Albumin, Globulin, Aspartate aminotransferase, Alanine aminotransferase, Uric acid, Lactate dehydrogenase, Total proteins, Alkaline phosphatase and Cholesterol. It was observed that some parameters were found with both upper and lower values compared to the normal values of healthy mice. Thus, with the present study, it may also be possible to develop parallel protocols of greater specificity in virus detection, such as the implementation of a new confirmatory analytical diagnosis.

**Keywords:** Encephalomyelitis, Swiss Webster mice, biochemical parameters, Theiler's.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a ciência de animais de laboratório representa um campo de evolução contínua sob aspecto biotecnológico. Para tal, o aspecto evolutivo se dá pela estruturação de barreiras sanitárias adequadas, cujo objetivo principal, é assegurar a produção de animais de laboratório e manter a integridade sanitária dos que são criados em colônias bio-protegidas e para que se consiga os requisitos necessários para o uso nas pesquisas médicas, são necessárias instalações apropriadas, equipamentos especializados e pessoal habilitado (ANDRADE, 2006 p. 21).

Entretanto, há ocorrências devido a problemas com agentes infecciosos em grandes colônias de animais de laboratório, onde o mesmo é citado como barreiras para as pesquisas. São vários os microrganismos que podem trazer tais transtornos, e dentre estes, os patogênicos são os que mais trazem preocupações, pois podem induzir a sinais clínicos e causarem infecções sintomáticas. As preocupações se dão porque esses agentes podem modificar resultados importantes na linha de pesquisa, podendo proporcionar um resultado não fidedigno para a realidade esperada dos experimentos. Neste caso, vê-se a importância da certificação de animais e colônias isentos de qualquer tipo de patógeno, sendo necessária a implementação de biotérios que possuam barreiras sanitárias, evitando assim a prevalência de microrganismos patogênicos, pois esses animais representam modelos adequados ao estudo de diferentes modalidades da medicina experimental (ANDRADE, 2006 p. 21).

Dentro dessa gama de patógenos encontrados em colônias de camundongos, temos o vírus da Encefalomielite Murina de Theiler (TMEV), descrita primeiramente por Max Theiler em 1937 durante estudos sobre a febre amarela (OLESZAK et al, 2004). O mesmo demonstrou, que o vírus conseguia persistir no Sistema Nervoso Central após inoculação in-tracerebral do vírus, causando a doença chamada de paralisia flácida, que causa perda de movimento nas patas posteriores dos camundongos (RIVER, 2009).

O estudo sobre a encefalomielite murina foi intensificada após descobrirem sua relevância como um modelo de estudo da esclerose múltipla, devido sua capacidade de desmielinização ocorrida em fase crônica do processo infeccioso. (ROOS, 2010).

De acordo com o demonstrado acima, pretende-se com este trabalho responder a seguinte questão: Quais os indicadores bioquímicos capazes de apresentar variações em camundongos ao longo do processo pelo TMEV? Os mecanismos de permanência e replicação do patógeno, assim como, todo o seu aspecto clínico no animal, podem gerar alterações no equilíbrio homeostático do organismo. Por esta razão, o objetivo principal deste estudo é determinar possíveis indicadores bioquímicos que corroboram o desequilíbrio fisiológico em casos de contaminação do vírus.

Como objetivos específicos pretende-se concomitantemente atualizar valores de normalidade de camundongos Swiss Webster sadios e relacionar os indicadores laboratoriais resultantes de acordo com a infecção causada.

## METODOLOGIA

A metodologia para a obtenção dos dados bioquímicos, consistiu na utilização do soro de 54 camundongos da linhagem Swiss Webster, com ambos os sexos e faixa etária entre 2 e 3 meses, divididos em animais SPF (livres de patógenos específicos) e convencionais (ambiente desprovido de barreiras sanitárias rigorosas). Os anestésicos foram administrados via punção intramuscular e via punção cardíaca (eutanásia). Para analgesia foram utilizados uma combinação dos fármacos Cloridrato de Cetamina a 10% e Cloridrato de Xilazina a 2%, puncionados via intramuscular e para eutanásia foi utilizado Tiopental sódico 1,0g mantido em processo de liofilização para posterior ressuspensão, puncionado via intra-cardíaco com auxílio de seringa de insulina (1ml). Os volumes utilizados foram calculados conforme o peso e idade do animal. Todos os procedimentos realizados estão em conformidade com a CEUA FIOCRUZ nº LW-27/17

O sangue coletado foi centrifugado a 13.000 rpm por 3 minutos para a obtenção do soro. A amostra resultante foi analisada através do equipamento de química seca, o Vitros 250 (Ortho clinical - Johnson & Johnson), que utiliza reativos secos capazes de analisar até sessenta parâmetros bioquímicos em amostras como soro, plasma, urina e líquido cefalorraquidiano. A amostra é pipetada em reativos secos presentes no equipamento, iniciando-se um processo chamado reflectometria, onde a densidade ótica do soro ou da excitação de elétrons gera um valor numérico, refletindo a concentração bioquímica resultante. Os parâmetros analisados foram: Albumina (ALB), Creatinina (CREA), Ureia nitrogenada do sangue (URE), Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST), Lactato desidrogenase (LDH), Ácido úrico (URIC), Globulina (GLOB), Colesterol (COL), Proteínas totais (PT) e Fosfatase alcalina (FA).

Para a comprovação da soropositividade dos animais para o patógeno em questão, é necessário que haja uma análise mais sensível. Com isso, foi utilizado um teste imunoenzimático kit comercial Bartels ELISA, onde foi possível detectar, por meio de placas sensibilizadas com fragmentos do antígeno, as amostras reagentes. Em caso de soropositividade no método aplicado, pode-se afirmar que o animal já esteve em contato com o vírus, porém não é possível determinar o sorotipo do mesmo e nem se a infecção está em sua fase aguda ou crônica, pois o kit utilizado não possui especificidade de anticorpo. O ELISA utilizado foi o indireto, onde há a ligação de antígeno - anticorpo.

A atualização dos valores de normalidade de camundongos saudáveis utilizados para análise com o grupo de animais infectados, foi obtido através de métodos de Intervalo de Confiança (IC), utilizando a ferramenta estatística do Excel. Por se tratar de parâmetros em que há uma grande variabilidade entre os animais, todos os dados foram considerados de distribuição não paramétrica. Esta atualização foi realizada pois reflete uma melhor condição da colônia atual de camundongos mantidos no biotério, correlacionado com a parte nutricional, condição sanitária e ambiental dos animais.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### Histórico

O vírus da Encefalomielite murina de Theiler inicialmente designado como cepa TO (Theiler's original), foi primeiramente isolado nas fezes de camundongos normais por Theiler & Gard em 1937-1940. Posteriormente realizaram estudos sobre a febre amarela e também conseguiram isolar mais duas cepas com características diferentes da primeira citada, eram elas denominadas GDVII e FA (RODRIGUES, 2004). As mesmas foram descritas como altamente virulentas quando comparadas a cepa TO, causando infecção aguda com sinais clínicos de uma poliomielite, podendo levar a morte (TSUNODA E FUJINAMI, 2010).

Em 1952, Daniels relatou desmielinização tardia (crônica) provocada por uma nova cepa identificada, denominada DA. Viu-se que a mesma causa dois tipos de lesões em camundongos adultos, uma delas é a encefalite aguda e a outra foi a infecção crônica, atacando células do Sistema Nervoso Central (SNC), causando lesão na medula espinhal e a desmielinização de camundongos inoculados com a cepa viral (TSUNODA E FUJINAMI, 2010).

Em seus estudos com o TMEV, Lipton em 1995, designou a doença como sendo bifásica, ou seja, após inoculação intracerebral da cepa DA, foi evidenciado em seus registros, uma infecção neural de caráter agudo apresentando paralisia flácida dos animais testados. Posteriormente, uma inflamação crônica intensa se desenvolveu nas leptomeninges da medula espinhal e na massa branca dos camundongos paralisados sobreviventes, procedendo-se a desmielinização, o que de fato corrobora que o vírus em sua fase aguda se replicava na massa cinzenta do cérebro, enquanto que em sua difusão tardia, o mesmo persistia na massa branca causando lesões maiores em células da glia e menores lesões nas células dos oligodendrócitos e astrócitos (LIPTON et al., 2005).

## Cepas e Patogênese Viral

Após relatos e mais descobertas acerca do vírus, o TMEV foi dividido em dois grupos de acordo com a sua virulência e propriedades virais após inoculação. No primeiro grupo podemos citar as cepas GDVII e FA, que são as altamente virulentas e induzem a encefalite aguda, podendo levar o animal a óbito. Já no segundo grupo temos as cepas TO, DA, BeAn, que são caracterizadas como menos virulentas, podendo causar patologias desmielinizantes (OLESZAK et al., 2004). Como exemplo nas distinções da capacidade do grau de virulência entre cepas virais, podemos observar na tabela abaixo as diferenças fenotípicas das cepas GDVII e TO.

Tabela: Diferenças fenotípicas entre subgrupos TMEV (ROOS, 2010)

Fenótipos	GDVII	TO (exemplo, estirpe DA*)
<u>Neurovirulência</u>	+ (= 1PFU 1DL <sub>50</sub> )	- (> 10 <sup>6</sup> PFU)
Doença neuronal precoce	+	+/-
<u>Infecção persistente com expressão restrita do gene do vírus</u>	-	+
<u>Desmielinização inflamatória tardia</u>	-	+

\* DA, estirpe Daniels; DL<sub>50</sub>, a morte de 50% dos animais; PFU, unidades formadoras de placas.

O TMEV é um vírus entérico encontrado em camundongos ou ratos. O mesmo faz parte do gênero *Cardiovirus*, pertencente a família *Picornaviridae*, sendo um vírus de RNA de fita simples com polaridade positiva, não envelopado, tamanho entre 20 a 30 nm, com forma icosaédrica. O tamanho do RNA varia entre 7,2 a 8,5 kilobases (Kb) e o genoma apresenta em torno de 8100 nucleotídeos (RODRIGUES, 2004).

Durante a infecção no sistema nervoso central do animal, podem ser encontradas grandes quantidades de RNA e genoma viral nas células da glia, mas com pouco achado de antígeno viral, ou seja, existe uma expressão tardia de proteínas da cepa DA, com isso acredita-se que o sistema imunitário intervém na perda de mielina que ocorre na massa branca (ROOS, 2010).

O vírus, por causar a doença desmielinizante crônica, é um excelente modelo de estudo de Esclerose Múltipla, pois os dois assemelham-se quanto a sua ação no SNC, causando a perda da bainha de mielina onde o sistema imunológico parece contribuir em ambos os distúrbios (HOLGADI, 2002).

## Transmissão e sinais clínicos

O TMEV infecta camundongos e ratos em todo o mundo, entretanto sua infecção não é de grande contágio, pois ele afeta a mucosa intestinal do animal, causando problemas entéricos, restringindo à transmissões fecais-orais. Quando ocorre disseminação viral, o agente pode se instalar em muitos tecidos, incluindo células da medula espinhal, parte cinzenta do cérebro e outros tecidos, incluindo o fígado, baço e SNC, este último espalhando-se por transporte axonal realizado por proteínas carreadoras, que levam sinapses, ribossomos, enzimas e proteínas até outros axônios. A transmissão transplacentária foi documentada e as culturas de células de camundongo e de rato podem ser infectadas (BAKER, 2003 p.243).

Os sinais clínicos durante a infecção natural são semelhantes as patologias entéricas, podendo passar por assintomática. Quando ocorre a disseminação viral, o mesmo pode causar encefalite fatal, visto que raramente há desmielinização dos animais através de infecção natural. Porém, quando a infecção é feita de forma experimental, os sintomas são de paralisia flácida dos membros posteriores, unilateral ou bilateral e ausência de movimentação (RIVER, 2009).

Após a disseminação, as alterações patológicas podem ser observadas na medula espinhal e no cérebro e consistem em poliomielite com necrose, meningite não supurativa, microgliose, perivasculite, neuronofagia de células de corno ventral e desmielinização auto-imune mediada por linfócitos T, TNF- e IL- 1 (BAKER, 2003 p. 243).

Os sinais clínicos de camundongos inoculados experimentalmente variam de acordo com a linhagem e a idade do animal. Os camundongos recém desmamados morrem alguns dias após o desmame, sem apresentar qualquer tipo de paralisia, já em camundongos mais velhos, após mais ou menos 30 dias foram visto sintomas, como: fraqueza nas patas, progredindo para paralisia, levando à morte do animal (RODRIGUES, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram obtidos de animais provenientes de um biotério de criação de roedores e lagomorfos, situado no município do Rio de Janeiro, encaminhados ao serviço de controle da qualidade animal durante os meses de Fevereiro a Agosto de 2017.

De acordo com os dados obtidos, podemos observar no Gráfico 1, o percentual de alterações ocorridas em comparação com valores de referência de animais saudáveis. Parâmetros como ureia (URE), aspartato aminotransferase (AST) e proteínas totais (PT) apresentaram maiores alterações comparados a outros parâmetros.

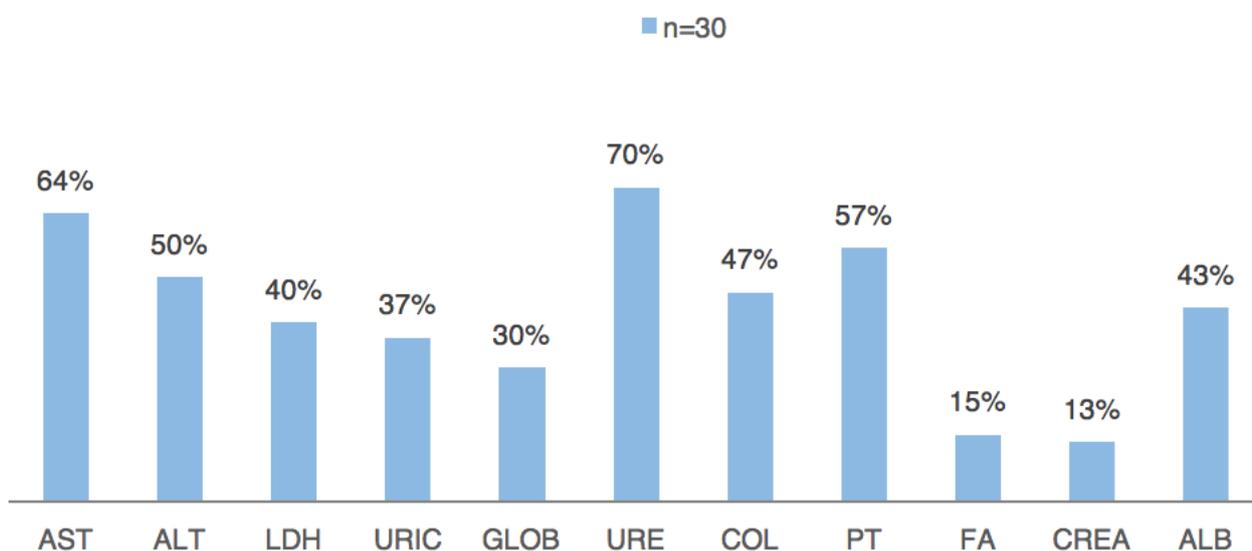


Gráfico 1: Percentagem de parâmetros com alterações dos animais soropositivos para TMEV.

No gráfico 2, foi possível observar as quantidades de amostras que encontravam-se com valores dos parâmetros tanto superiores quanto inferiores de acordo com os valores referenciais construídos para este estudo, refletindo condições atuais dos animais. Para a análise dos dados, foi considerado os parâmetros que mostraram-se fora dos valores estipulados, ou seja, aqueles de maior variação.

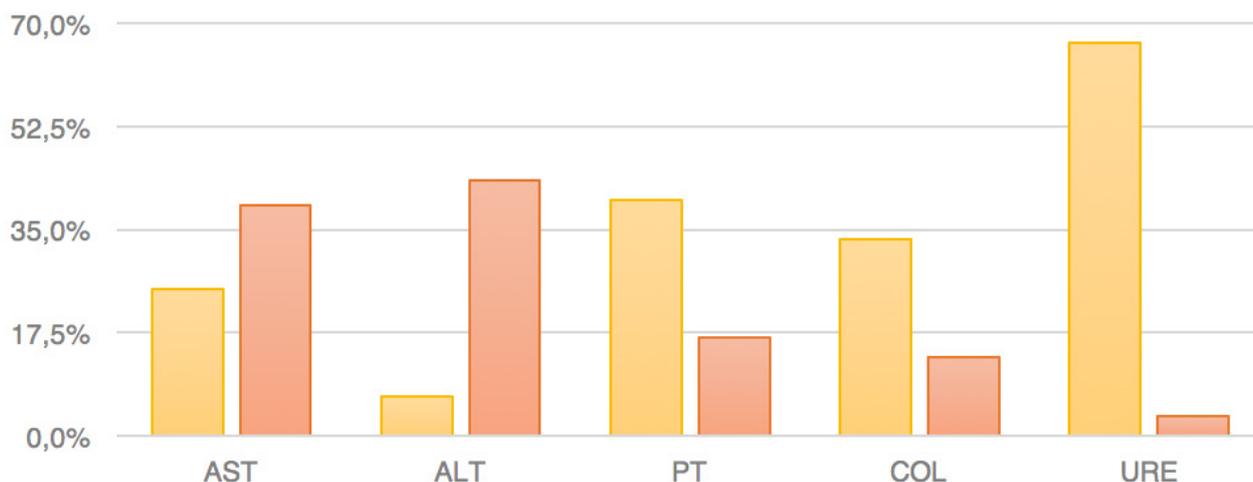


Gráfico 2: Parâmetros que apresentaram grandes variações e seu percentual de valores abaixo e acima comparados aos valores de normalidade estipulados.

O parâmetro uréia, de 30 amostras analisadas, 20 encontravam-se com valores acima do valor de referência, ou seja 66,6% do total analisado; proteínas totais também apresentou valores acima em 12 amostras de 30 analisadas, representando 40% do total analisado. Em contra partida, os valores de alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase como observado, demonstraram variações abaixo do valor referencial, com 13 e 11 amostras, o que resulta em 43,3% e 39,2% de alterações em relação com o total analisado respectivamente. O parâmetro colesterol apresentou valores acima da normalidade, com 10 amostras, resultando em 33,3% do total.

De acordo com os resultados abordados, foram traçados algumas suposições que podem pré estabelecer as causas de variações dos parâmetros utilizados como possíveis indicadores de contaminação do vírus nos animais.

Como analisado anteriormente, partindo do princípio que o TMEV tem como sítios de replicação, após sua disseminação viral e circulação pelo organismo, o fígado, baço e SNC, podemos supor de acordo com Thrall e colaboradores (2014), que as causas de aumento do parâmetro uréia nos camundongos possa ter se dado através de falha na função hepática do animal, devido sua síntese ocorrer no fígado.

Proteínas totais apresentaram alterações acima dos valores normais. Sendo ela o conjunto de albumina e globulina em teores séricos, o aumento dessas partes podem elevar consequentemente o nível proteico no sangue. González e Silva (2006) apontam que a albumina perfaz cerca de 50% do total de proteínas no sangue e analisando os resultados, pode-se supor que o aumento de albumina e gradual aumento de globulinas, segundo estes autores, ocorreu por conta da desidratação do animal seguida de hemoconcentração ao diminuir o volume plasmático. Possivelmente este fato pode ter ocorrido devido a crise diarreica intestinal.

Outro dado relevante que pode confirmar o aumento de proteínas totais na parte sérica dos animais infectados por meio da desidratação, é o aumento de hematócrito no sangue, de acordo com Thrall. Este parâmetro reflete a porcentagem de volume de hemácias ocupadas no volume total do sangue, ou seja, havendo a desidratação, o teor de água diminui, elevando a densidade de glóbulos vermelhos no sangue.

González e Silva descreveram que o colesterol pode ser proveniente de alimentos (origem exógena) ou sintetizados no fígado, intestino, gônadas, glândulas adrenal e pele (origem endógena). Sua função principal é ser precursor dos ácidos biliares, fazendo parte da bile e dos hormônios esteróides. Assim pôde-se supor, devido a replicação do vírus, que a elevação deste parâmetro nos animais infectados, deu-se por conta da obstrução biliar, corroborando com os achados na literatura.

As enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) são sensíveis a avarias hepatocelulares causadas ao fígado, rins e parte muscular. Por esta razão, qualquer lesão a nível celular que possa acometer estes tecidos, essas enzimas possivelmente serão liberadas na corrente sanguínea. González e Silva, apontam que mesmo tendo ALT como uma enzima mais específica da parte hepática do que AST, a junção das duas enzimas refletem mais ainda a patologia hepática. Entretanto, neste estudo, tanto ALT quanto AST encontravam-se abaixo do valor de normalidade, assim podemos supor com base nos achados na literatura que a diminuição do parâmetro ALT é encontrado apenas em processos crônicos no organismo.

Analisando os parâmetros que apresentaram certas variações e colocando-os dentro do contexto de sexo dos animais, foi possível perceber que aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase tiveram um maior decaimento dos valores em animais do sexo masculino, em contra partida, os parâmetros proteínas totais, colesterol e uréia dos machos tiveram uma resposta mais elevada em relação as fêmeas analisadas. Ou seja, podemos supor que a maioria das variações ocorreram significativamente em animais machos. Araújo (2015) aponta, que de acordo com as análises realizadas em seu estudo, foi possível perceber que os machos possuíam em sua maioria, valores elevados na análise dos parâmetros obtidos, como por exemplo a Ureia e Creatinina. Outros parâmetros como as enzimas hepáticas e fosfatase alcalina tiveram uma maior variabilidade entre os gêneros, enquanto que proteínas totais obteve menor variabilidade.

Realizando uma comparação entre os valores que apresentavam alguma alteração com outros tipos de agentes patogênicos, percebeu-se que as amostras que resultaram em alterações, tinham em sua maioria contaminação por bactérias, como *Citrobacter sp*, *Salmonella sp.* e parasitas, como a *Syphacia sp.* Dos 30 animais reagentes para o vírus estudado, apenas 5 apresentaram positividade para a bactéria *Salmonella sp.* e *Citrobacter sp.* Para *Syphacia sp.*, apenas 3 foram positivos. Levando em consideração que estas bactérias e parasitas possuem seu sítio de ação no intestino, os animais analisados podem ter sofrido possível influência na coinfeção por tais patógenos devido à baixa imunidade viral, acarretando em maior suscetibilidade de contágio e entrada desses agentes no organismo.

Segundo Thrall e colaboradores, na avaliação do perfil bioquímico destes animais, diversas variáveis, como idade, sexo, estado de hidratação e condição nutricional influenciaram nos resultados dos testes bioquímicos. Assim como fatores ambientais, coleta de amostras, manuseio na contenção, administração do analgésico, local de obtenção da amostra e seu armazenamento, demonstram o quanto é importante haver medidas corretas para obter-se resultados fidedignos. Entretanto, mesmo dentro dessas condições que influenciam nos resultados, os animais positivos para TMEV utilizados para este estudo, confirmados por triagens sorológicas, evidenciam que os parâmetros encontravam-se realmente alterados por conta da infecção e não por anormalidade na obtenção de amostras biológicas destes animais.

Este mesmo autor aborda que o sangue coletado por punção cardíaca pode ser contaminado com níveis de enzimas musculares, como a creatina quinase, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, presentes em altas concentrações no músculo cardíaco. Isto pode ocorrer se as coletas não forem realizadas de forma adequada, perfurando o coração inúmeras vezes, causando estresse ao animal. Porém, pode-se afirmar que as coletas e o manejo realizado neste presente estudo foram feitas por técnicos altamente capacitados, administrando medicamentos corretos, sempre com a supervisão de um veterinário.

Como abordado no início, a estruturação de barreiras sanitárias em biotérios é de suma importância para integridade dos animais ali contidos, desta maneira, consegue-se obter animais isentos de agentes patogênicos que podem interferir na pesquisa. Segundo Baker (2003), o contágio do vírus pode comprometer trabalhos e pesquisas importantes na área médica, mas especificamente estudos envolvendo os sistemas enteropático, imunológico, músculo-esquelético e nervoso, pois o vírus pode causar paralisias e patologias desmielinizantes possivelmente mediadas por autoimunidade.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos em camundongos se faz necessário para uma correta interpretação dos dados experimentais. As análises realizadas demonstraram variações nas respostas fisiológicas dos animais de acordo com o local de contágio do vírus estudado, propondo um possível diagnóstico analítico de infecção através de indicadores bioquímicos, de forma que seja possível traçar perfis de contágio através dessas análises.

Desta forma, o presente estudo conseguiu proporcionar possíveis informações das variações nos parâmetros avaliados, demonstrando também, a necessidade do estabelecimento e atualização de valores de referência para cada biotério devido a diferenças encontradas em vários padrões sanitários onde os animais são mantidos.

Portanto, desta maneira, paralelamente ao estabelecido no presente trabalho, poderá ser possível também desenvolver protocolos no campo da Biologia Molecular como forma de detecção do vírus, pois além da implantação de um novo diagnóstico analítico confirmatório, poderemos detectar qual o grau de virulência que podem acometer os animais de laboratórios monitorados, isto através de ensaios Inter laboratoriais utilizando PCR para determinação da presença do vírus e caracterização de seus subgrupos. Assim, as condições de saúde e bem-estar dos animais poderão ser analisadas permitindo a obtenção de resultados mais confiáveis, diminuindo interferências no âmbito da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, A., PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S.; Animais de Laboratório: criação e experimentação; Rio de Janeiro; Editora FIOCRUZ, 2002. Revisada em 2006. 388 p.

ARAÚJO, F., T. M., et al.; Estabelecimento de valores de referência para parâmetros hematológicos e bioquímicos em linhagens de camundongos produzidas no biotério do Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ – Minas Gerais; RESBCAL; São Paulo; v.3 n.2; pg. 95-102; 2015.

BAKER, D. G. Natural Pathogens of Laboratory Animals: Their Effects on Research; ed. 1º; E.U.A: ASM Press, 2003. 385 p.

CHARLES RIVER; Theiloviruses (MEV [TMEV], RTV [GDVII]); Technical sheet; Massachusetts, EUA. 2009. Disponível em: [http://www.criver.com/files/pdfs/infectious-agents/rm\\_ld\\_r\\_theiloviruses.aspx](http://www.criver.com/files/pdfs/infectious-agents/rm_ld_r_theiloviruses.aspx); Acesso em: 13 de Maio de 2017.

GONZALÉZ, F. H. D.; SILVA, S. C.; Introdução a Bioquímica Veterinária; 2ª ed.; 318-337; UFRGS editora; Rio Grande do Sul; 2006.

HOLGADI, E. M. et al.; Encefalomiелitis por infección con el virus de Theiler como modelo experimental de esclerоsis múltiple: citocinas y posibles mecanismos patogénicos. Revista de Neurología. p. 973-978. 2002.

LIPTON, H. L.; KUMAR, A. S. M.; TROTTIER, M.; Theiler's virus persistence in the central nervous system of mice is associated with continuous viral replication and a difference in outcome of infection of infiltrating macrophages versus oligodendrocytes. Virus Research; p. 214–223. 2005.

OLESZAK, E. L. et al.; Theiler's Virus Infection: a Model for Multiple Sclerosis. Clinical Microbiology Reviews. p. 174–207. 2004.

RODRIGUES, D. M.; Infecção por Cardiovírus (Vírus da Encefalomielite Murina de Theiler – TMEV) em colônias convencionais de ratos. 96 f. Tese Mestrado em Genética e Biologia Molecular - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. São Paulo. 2004.

ROOS, R. P. Pathogenesis of Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced disease. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*. v. 1. p. 70–78. 2010.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALISON, R. W.; CAMPBELL, T. W.; *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*; 2º ed.; p. 433-438; 2014. ROCA.

TSUNODA, I. FUJINAMI, R. S. Neuropathogenesis of Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus Infection, An Animal Model for Multiple Sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol*. v. 5. p. 355–369. 2010.



FACULDADES  
SÃO JOSÉ

[www.saojose.br](http://www.saojose.br) | (21) 3107-8600  
Av. Santa Cruz, 580 - Realengo - Rio de Janeiro