

Avaliação da virulência em hamsters (*Mesocricetus auratus*) de estirpes de *Mycobacterium avium* presentes na população de suínos do sul do Brasil

Evaluation of the virulence in hamsters (*Mesocricetus auratus*) of *Mycobacterium avium* strains from the swine population of the south of Brazil

Eugenia Márcia de Deus OLIVEIRA¹; Zenaide Maria MORAIS¹; Rosana TABATA¹; Ricardo Augusto DIAS¹; Rosângela Siqueira de OLIVEIRA²; Sylvia Cardoso LEÃO²; Nelson MORÉS³; José Luiz GUERRA¹; Sílvio Arruda VASCONCELLOS¹; Fernando FERREIRA¹; Sonia Regina PINHEIRO¹; Simone Carvalho BALIAN¹; José Soares FERREIRA NETO¹

CORRESPONDÊNCIA PARA:
EUGENIA MÁRCIA DE DEUS OLIVEIRA
Departamento de Medicina Veterinária
Preventiva e Saúde Animal
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87
Cidade Universitária Armando Salles Oliveira
05508-270 - São Paulo - SP
e-mail: emdo@usp.br

1 - Departamento de Medicina Veterinária
Preventiva e Saúde Animal da Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo, São Paulo - SP
2 - Universidade Federal de São Paulo -
Escola Paulista de Medicina, São Paulo - SP
3 - EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa
em Suínos e Aves, Concordeia - SC

RESUMO

Tendo sido comprovada a existência de quatro famílias molecularmente distintas de *M. avium* (PIG-A, B, C e D) circulando em suínos da região sul do Brasil, e havendo dúvidas a respeito da importância da transmissão horizontal como mecanismo de manutenção da doença, o presente teve por objetivo estudar a virulência dessas estirpes, informação importante para o aperfeiçoamento dos métodos de controle. Uma estirpe representante de cada família foi inoculada pela via intra-peritoneal em 48 hamsters com uma dose de 30.000 U.F.C. por animal. Após 2, 13, 26 e 40 dias da inoculação (T1 a T4), 12 hamsters inoculados de cada família foram anestesiados, sacrificados e os agentes foram quantificados no fígado, baço e pulmão. Os resultados foram expressos em número de U.F.C./g de órgão. A presença das estirpes foi pesquisada no sangue e também foram realizados exames histológicos. As estirpes PIG-A, B, C e D induziram a formação de lesões granulomatosas no fígado e baço a partir do segundo dia pós-inoculação e disseminaram-se pela via hemática, alcançando os pulmões. O baço sempre apresentou maiores contagens de U.F.C., seguido pelo fígado e pulmões. Diferenças entre as estirpes foram constatadas através de análises das contagens de U.F.C de baço (T1: p<0,001; T2: p<0,001; T3: p<0,001 e T4: p<0,001), permitindo a construção da seguinte escala de virulência: PIG-B> PIG-A> PIG-D> PIG-C.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycobacterium avium*. Virulência. Suínos. Micobacteriose. Tuberculose.

INTRODUÇÃO

Acredita-se que os microrganismos pertencentes ao MAC (Complexo *Mycobacterium avium*) sejam ubíquos, pois são frequentemente isolados da água, plantas e solo, e estão distribuídos em toda parte do mundo. Antes da descoberta do HIV (vírus da imunodeficiência humana), o MAC era ocasionalmente responsável por infecções pulmonares localizadas em pessoas predispostas a doenças pulmonares obstrutivas, bronquiectasias e pneumonias¹⁰. O advento da AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) resultou em um aumento da incidência de micobacterioses por MAC, e tem sido reconhecida como uma das infecções bacterianas oportunistas mais comuns, causando doença disseminada em indivíduos infectados pelo HIV (14; 13; 21).

Os fatores de virulência e patogenicidade destes microrganismos oportunistas ainda não foram claramente compreendidos. Os isolados de pacientes aids têm se mostrado mais virulentos que os isolados do meio ambiente.

Os sorotipos 4, 8 e 1 são os mais comumente isolados de pacientes infectados com o HIV. A grande maioria das estirpes isoladas de pacientes com AIDS contém um ou mais plasmídeos. Porém, tentativas para explicar a relação entre sorotipo e virulência ou presença plasmídica e virulência são relativamente frágeis, uma vez que sorotipos 4 e 8 também são isolados de pacientes não aids e MAC com plasmídeos também são isolados do meio ambiente. Existem também propostas para se estabelecer relação entre virulência e característica das colônias do MAC em meio sólido²². As variantes lisas transparentes (LT) são as mais frequentes em isolados clínicos, enquanto as lisas opacas (LO) e as rugosas opacas (RO) são frequentemente isoladas do meio ambiente. Porém, a variação na morfologia da colônia é transitória e reversível. Alguns estudos também procuraram relacionar a virulência e a presença da sequência de inserção IS901 em estirpes de MAC¹⁹.

Além da relevância para a Saúde Pública, microrganismos pertencentes ao MAC têm uma grande importância para a suinocultura moderna. Em países que

alcançaram bons resultados no combate à tuberculose bovina e humana, cresce a importância da tuberculose suína causada pelo MAC²⁸.

É notória, na literatura, a decrescente ocorrência do *M. bovis* como agente etiológico de lesões em suínos e o aumento dos isolados de representantes do MAC^{7; 9; 20; 2}. Este fato pode ser relacionado à crescente tecnificação da suinocultura, tendo como consequência a redução do contato direto ou indireto com bovinos ao mesmo tempo que vem oferecendo condições para a introdução de outras micobactérias que não as tuberculosas e o estabelecimento de ciclos dinâmicos de transmissão desses agentes.

Com relação ao controle das infecções por MAC em suínos, estudos recentes mostram que em determinadas regiões elas estão associadas ao meio ambiente, principalmente a cama^{6; 23; 24; 26; 12; 8} e/ou manejo e/ou à presença de reservatórios silvestres (principalmente aves)¹. Portanto, fatores de risco externos, que uma vez individualizados e suprimidos resultariam no controle da infecção. O que não está muito claro é se a transmissão suína a suíno (horizontal) tem alguma importância na manutenção da doença dentro das criações⁸, o que significaria uma estratégia de controle diferente da anterior, baseada na identificação de suínos infectados através do diagnóstico e sua eliminação. Logicamente, a transmissão horizontal vai depender da agressividade da estirpe de micobactéria envolvida, assim como da dose infectante¹⁸. Quanto mais virulenta for a estirpe, mais severas serão as lesões e, por conseguinte, maiores as chances de um animal infectado tornar-se eliminador de micobactérias, ou seja, fonte de infecção. Portanto, num programa de controle torna-se importante a caracterização precisa das estirpes envolvidas, o que permitirá um melhor conhecimento da cadeia de transmissão da doença e o aperfeiçoamento dos métodos de controle.

Vários métodos têm sido empregados para se estudar a virulência das micobactérias: expressão de hemolisina¹⁷, mortalidade em ovos embrionados¹⁶ e quantificação bacteriana em tecidos de animais de laboratório experimentalmente infectados^{4; 15 e 27}.

O hamster tem sido empregado como modelo biológico experimental da tuberculose, reproduzindo com facilidade o processo desencadeado pela inoculação experimental do *M. bovis* e do *M. Avium*, através da avaliação quantitativa da concentração do agente em diferentes órgãos e da evolução das lesões macro e microscópicas no tempo^{3; 11}.

Tendo sido comprovada a existência de quatro famílias molecularmente distintas de *M. avium* circulando na população de suínos da região sul do Brasil²⁵ e sabendo-se que a virulência está relacionada à transmissão horizontal, estudou-se a virulência dessas estirpes pois, a partir desses resultados, estirpes mais virulentas poderão ser empregadas para estudos de transmissão horizontal em suínos, o que

permitirá o melhor conhecimento da cadeia de transmissão dessas infecções e o subsequente aperfeiçoamento dos métodos de controle.

MATERIALE MÉTODO

Foram utilizadas quatro estirpes de MAC, oriundas de quatro famílias individualizadas por tipagem molecular utilizando o método de RFLP dirigido para a seqüência de inserção IS1245²⁵. As famílias foram denominadas PIG A, B, C e D. Dentro de cada família foi escolhida uma estirpe para representá-la. A escolha recaiu sobre aquela que apresentou perfil genético mais freqüente.

Foram utilizados 200 hamsters fêmeas (*Mesocricetus auratus*), com peso entre 70 e 160 gramas. Foram estruturados quatro grupos experimentais (A, B, C e D), cada um contendo 48 hamsters, que receberam 30.000 U.F.C. do agente infectante por animal. O grupo controle recebeu apenas o veículo do inóculo. No dia zero o inóculo foi administrado em cada animal pela via intra-peritoneal. Nos dias 2; 13; 26 e 40 pós-inoculação, 12 animais de cada grupo e um do controle foram sacrificados.

Antes do sacrifício, os animais foram anestesiados com éter etílico para a colheita de 0,5mL de sangue. O sangue foi imediatamente diluído em 4,5mL de solução salina estéril. Do diluído foi semeado 0,1mL em placas de Petri contendo o meio sólido Petragnani para cultivo de micobactérias, com o objetivo de constatar eventuais fases de bacteremia.

Em seguida, a anestesia com vapores de éter etílico foi aprofundada até o sacrifício e os animais foram imersos em solução 1/30 de hipoclorito de sódio, durante 15 minutos, após o que foram feitas colheitas estéreis de baço, fígado e pulmão para o cultivo quantitativo de micobactérias e exame histológico. Cada órgão foi inicialmente pesado e triturado em stomacher, acrescentando-se 2mL de solução salina 0,85% estéril. Após completa homogeneização esse volume foi transferido para uma proveta com capacidade de 50mL e o volume completado para 10mL, este volume final foi denominado de diluição inicial, a partir da qual foi obtida mais uma, de razão dez. De cada uma das diluições, de cada um dos órgãos foram semeadas duas placas com meio Petragnani na quantidade de 0,1mL/placa. Os cultivos foram mantidos em estufa a temperatura de 37°C, observadas a cada sete dias e a contagem do número de U.F.C. foi realizada após 30 dias de incubação.

Para a contagem das U.F.C. foram adotados os seguintes critérios: a) média aritmética das duas placas quando em qualquer das diluições as contagens de U.F.C. não superavam 300 – havendo duas diluições que satisfizessem esse critério, foi sempre adotada aquela de menores contagens; b) quando mesmo na maior diluição as placas apresentavam contagens de U.F.C. superiores a 300, foi adotado para efeito de cálculo o número 300, e o resultado foi expresso em valor antecedido pelo sinal >. Esses critérios

foram adaptados de BRASIL⁵.

Tratamento Estatístico

As contagens em U.F.C. de *M. avium*/g de órgãos examinados foram comparadas entre órgãos e entre estirpes para cada um dos tempos experimentais, utilizando-se os testes não paramétricos de Kruskal Wallis e Mann Whitney. As análises foram realizadas através do programa SPSS for Windows ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

Durante todo o experimento não houve mortalidade de animais inoculados e não foi verificada a presença bacteriana nos órgãos dos animais controles.

Em nenhuma oportunidade foi observada a presença de lesão granulomatosa nos pulmões.

No baço e fígado, nos quatro tempos experimentais, para as quatro estirpes, foram encontradas lesões

granulomatosas microscópicas.

No sangue foi observada a presença do agente no primeiro tempo experimental para as estirpes PIG-A (3 animais), PIG-B (5 animais) e PIG-D (1 animal). No segundo tempo experimental a bacteremia foi observada apenas em dois animais inoculados com a estirpe PIG-B. Nos demais tempos não foi constatada a presença do agente no sangue.

O resumo estatístico dos resultados das contagens de U.F.C. em órgãos estão organizados na Tab.1.

As contagens de U.F.C. consolidadas para as quatro estirpes e comparadas entre os órgãos para cada um dos tempos experimentais mostraram que houve diferença entre eles (T1: $p<0,001$; T2: $p<0,001$; T3: $p<0,001$ e T4: $p<0,001$). Os resultados oriundos da comparação das contagens de U.F.C. entre órgãos para cada um dos tempos experimentais constam da Tab.2 e da Fig. 1.

As contagens de U.F.C. obtidas de baço e comparadas entre quatro estirpes para cada um dos tempos experimentais mostraram que houve diferença entre elas (T1: $p<0,001$; T2:

Tabela 1

Resumo estatístico dos resultados das contagens de U.F.C. por grama de órgão de hamsters inoculados pela via intra-peritoneal com quatro estirpes de *Mycobacterium avium* – São Paulo – 2001

Resumo estatístico		Tempos experimentais em dias pós-inoculação											
		2			13			26			40		
		Mediana	Quartis		Mediana	Quartis		Mediana	Quartis		Mediana	Quartis	
Estirpes	Órgãos	1ª	3ª	1ª	3ª	1ª	3ª	1ª	3ª	1ª	3ª		
Pig-A	Baço	30000	19250	49750	245000	117500	360000	330000	300000	367500	225000	195000	350000
	Fígado	1150	452	1550	1650	327	2850	1050	615	1475	540	325	767
	Pulmão	330	82	730	..*	-	-	-	-	-	-	-	-
Pig-B	Baço	63000	48750	100000	790000	580000	1275000	385000	205000	582500	220000	175000	375000
	Fígado	4550	2875	7050	1450	672	3800	775	187	1182	535	260	772
	Pulmão	2250	700	3450	-	-	917	-	-	247	-	-	-
Pig-C	Baço	1000	-	1750	2000	1125	5625	16500	10175	30750	17000	11250	41750
	Fígado	-	-	-	55	-	130	-	-	185	-	-	185
	Pulmão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pig-D	Baço	2900	2000	4500	6500	3875	14500	112500	71500	187500	79500	44500	106500
	Fígado	220	132	242	245	115	485	195	115	767	155	-	320
	Pulmão	-	-	-	-	-	-	-	-	150	-	-	-

* Nenhuma U.F.C. isolada

Tabela 2

Valores de p^* referentes à comparação das contagens de U.F.C. de *Mycobacterium avium* entre órgãos de hamsters experimentalmente infectados – São Paulo – 2001

Órgãos	Tempos experimentais em dias pós-inoculação							
	2		13		26		40	
	fígado	pulmão	fígado	pulmão	fígado	pulmão	fígado	pulmão
baço	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
fígado	-	0,069	-	<0,001	-	<0,001	-	0,001

* calculados pelo teste Mann Whitney com auxílio do programa SPSS 10.0

OLIVEIRA, E.M.D.; MORAIS, Z.M.; TABATA, R.; DIAS, R.A.; LEÃO, S.C.; MORÉS, N.; GUERRA, J.L.; VASCONCELLOS, S.A.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, S.R.; BALIAN, S.C.; FERREIRA NETO, J.S. Avaliação da virulência em hamsters (*Mesocricetus auratus*) de estirpes de *Mycobacterium avium* presentes na população de suínos do sul do Brasil. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v.39, n.4, p.202-207, 2002.

Tabela 3

Valores de p* referentes à comparação das contagens de U.F.C./g de baço entre as quatro estirpes de *Mycobacterium avium*, segundo os tempos experimentais. Hamsters inoculados pela via intra-peritoneal – São Paulo – 2001

Estirpe	Tempos experimentais em dias pós-inoculação											
	2			13			26			40		
	Pig-B	Pig-C	Pig-D	Pig-B	Pig-C	Pig-D	Pig-B	Pig-C	Pig-D	Pig-B	Pig-C	Pig-D
Pig-A	0,012	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,671	<0,0017	<0,001	0,799	<0,001	<0,001
Pig-B		<0,001	<0,001		<0,001	<0,001		0,004	0,017		<0,001	<0,001
Pig-C			0,01			0,012			<0,0001			0,002

*calculados pelo teste Mann Whitney com auxílio do programa SPSS 10.0

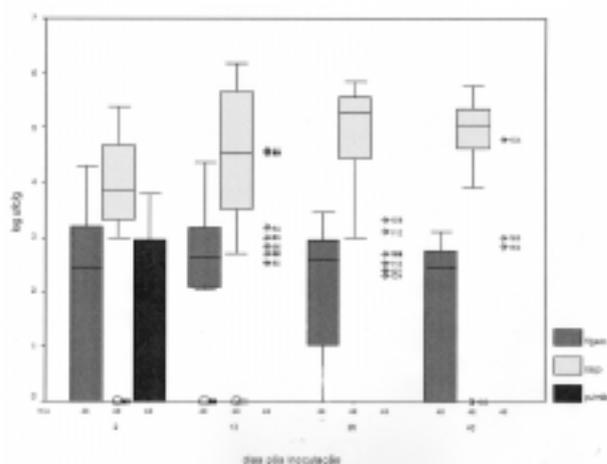


Figura 1

Número de U.F.C. de *Mycobacterium avium* segundo órgãos e tempos experimentais. Hamsters inoculados pela via intra-peritoneal – São Paulo -2001

p<0,001; T3: p<0,001 e T4: p<0,001). A Tab. 3 e a Fig. 2 mostram os resultados oriundos da comparação das contagens de U.F.C./g de baço entre estirpes para cada um dos tempos experimentais.

DISCUSSÃO

As quatro estirpes de *M. avium* foram isoladas de baço, fígado e pulmão e produziram lesões granulomatosas em baço e fígado, mostrando que todas elas foram capazes de produzir infecção em hamster. Aos dois dias pós-inoculação já foi possível constatar microscopicamente a presença de granulomas típicos no fígado e baço. Nos pulmões não foi constatada a presença de lesões granulomatosas em nenhum tempo experimental para nenhuma das quatro estirpes, embora tenha havido o isolamento das mesmas nesses órgãos, em todos os tempos, exceto no 3º e 4º para a estirpe PIG-C. Balian³ evidenciaram lesões granulomatosas em baço, fígado, linfonodo mesentérico e pulmões de hamsters inoculados oralmente com estirpe de MAC isolada de suíno do Estado de São Paulo. No presente experimento não foram encontradas

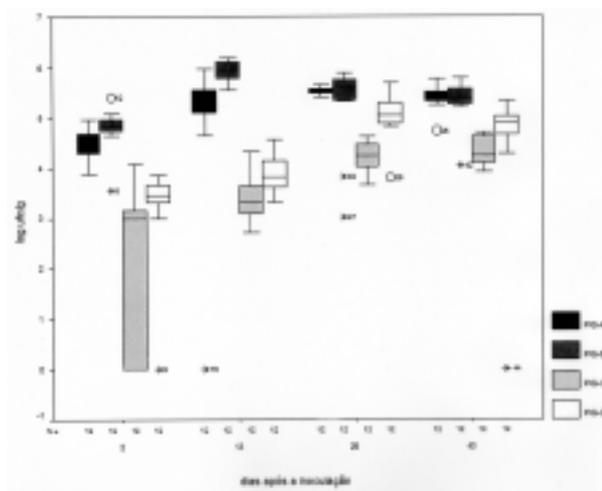


Figura 2

Número de U.F.C. de *Mycobacterium avium* em baço, segundo estirpes e tempos experimentais. Hamsters inoculados pela via intra-peritoneal – São Paulo – 2001

lesões nos pulmões e isso pode ter sido conseqüência da não realização de cortes histológicos seriados nesse órgão.

O isolamento de MAC do sangue no primeiro tempo experimental justifica o seu encontro nos pulmões e sugere que a disseminação do agente ocorreu precocemente pela via hemática. Apenas para a estirpe PIG-C não foi constatada a bacteremia, embora o agente tenha sido isolado dos pulmões nos dois primeiros tempos experimentais. Balian³ também constataram bacteremia dois dias pós-inoculação.

Bermudez, Petrofsky e Kolonoski⁴ após cinco inoculações pela via oral da dose 10⁸ MAC/ camundongo bege de estirpes isoladas de pacientes aidéticos, observaram grande número de organismos viáveis em baço e fígado; mortalidade média de 26% e infecção disseminada em 100% dos animais após duas semanas. No presente experimento não houve mortalidade dos animais inoculados. Essa discrepância de resultados pode ser explicada pela diferença de estirpes e de modelo animal utilizado.

As contagens de U.F.C. consolidadas para as quatro estirpes e comparadas entre os órgãos para cada um dos tempos experimentais (Fig. 1), mostraram haver diferença entre os três órgãos, sendo que as quantidades de U.F.C./g foram sempre maiores no baço, seguido em ordem decrescente pelo fígado

e pulmão (Tab. 2 e Fig. 1). Observando-se os resultados das contagens, verifica-se que a partir de 13 dias pós-inoculação existe uma tendência de diminuição da quantidade de bactérias recuperadas dos órgãos, sugerindo que as infecções produzidas pelas quatro estirpes são auto-limitantes. Estudos mais prolongados poderão responder esse questionamento que tem importantes implicações em eventuais mecanismos de transmissão horizontal.

As contagens de U.F.C./g de baço comparadas entre as quatro estirpes para cada um dos tempos experimentais (Tab. 3 e Fig. 2), mostraram contagens sempre foram maiores para as estirpes PIG-A e B quando comparadas àquelas verificadas para PIG-C e PIG-D. O mesmo se verifica para a estirpe PIG-D em relação à PIG-C. As únicas ocasiões onde não houve diferença nas contagens foi no terceiro e quarto tempos experimentais, quando comparadas as estirpes PIG-A e B (Tab. 3).

Esses resultados permitem dizer que as estirpes PIG-A e B apresentam uma capacidade de se multiplicar nos tecidos de hamsters maior que as PIG-C e D, e que a PIG-B, nos dois primeiros tempos experimentais apresentou essa mesma capacidade frente à PIG-A, o que significa diferentes capacidades de produzir infecção, o que pode ser entendido como diferentes virulências. Portanto, relativamente à virulência foi possível construir a seguinte escala: PIG-B > PIG-A > PIG-D > PIG-C. Se maior virulência for entendida como maior capacidade de difusão de um agente infeccioso não letal numa dada população, os dados obtidos no presente estudo explicam as freqüências de isolados obtidos de material

de campo. Foram obtidos 27 isolados da estirpe Pig-B, oito da estirpe Pig-A e seis isolados para cada uma das estirpes Pig-C e D. Importante dizer que o estudo dos isolados não foi planejado para a obtenção de freqüências.

Assim sendo, foi possível concluir que a diferenciação molecular de estirpes de MAC pela técnica de RFLP (25) está relacionada à característica genotípica representada pela virulência. PAVLIK et al.¹⁹, estudando a relação entre a virulência e a presença da sequência de inserção IS901 em 165 estirpes de MAC virulentas para aves, caracterizadas por tuberculose generalizada, verificou que 164 estirpes apresentavam IS901.

A partir desses resultados, seria extremamente interessante a utilização da estirpe PIG-B em estudos experimentais com suínos, procurando elucidar a existência e a importância da transmissão horizontal desses agentes nesta espécie.

CONCLUSÕES

A partir de inoculação intra-peritoneal em hamsters, as estirpes PIG-A, B, C e D de *Mycobacterium avium* foram capazes de colonizar fígado, baço e pulmões e houve disseminação hemática.

O baço, quando comparado ao fígado e pulmão, é o órgão onde as estirpes multiplicam-se com maior intensidade.

A estirpe PIG-B é a que apresenta maior capacidade de se multiplicar nos tecidos de hamster, seguida pelas estirpes PIG-A, D e C.

SUMMARY

The finding of four clusters of *M. avium* (PIG-A, B, C and D), typed by the IS1245-RFLP method, infecting the swine population of the south region of Brazil, the possible existence of virulence differences among them, the role of the virulence in the transmission mechanisms of infections and the existence of reasonable doubts regarding the importance of horizontal transmission for swine micobacteriosis, the virulence of these four strains of *M. avium* were compared. Bacteria from each cluster were inoculated in 48 hamsters by intra-peritoneal route. On the 2nd, 13th, 26th, and 40th days after inoculation, (T1 to T4), 12 animals of each cluster were sacrificed with vapors of ethyl ether and the bacteria were quantified in the liver, spleen and lung. Results were expressed as cfu/g of organ. The presence of the strains was verified in the blood and histological exams were also accomplished. The four strains induced granulomatous lesions in the liver and spleen since 2 days after inoculation and were disseminated to the lungs through the blood stream. The cfu counts from spleen were always bigger than that obtained from liver and lungs. Differences among strains were observed through the analysis of cfu counts from spleen (T1: p<0,001; T2: p<0,001; T3: p<0,001 and T4: p<0,001), allowing the construction of the following virulence scale: PIG-B> PIG-A> PIG-D> PIG-C.

KEY-WORDS: *Mycobacterium avium*. Virulence. Swine. Micobacteriosis. Tuberculosis.

REFERÊNCIAS

- 1 - ALFREDSEN, S.; SKJERVE, E. An abattoir-based case-control study of risk factors for mycobacteriosis in Norwegian swine. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 15, n. 4, p. 253-259, 1993.
- 2 - BALIAN, S. C.; RIBEIRO, P.; VASCONCELLOS, S. A.; PINEIRO, S. R.; FERREIRA NETO, J. S.; GUERRA, J. L.; XAVIER, J. G.; MORAIS, Z. M.; TELLES, M. A. S. Linfadenites tuberculoides em suínos abatidos no Estado de São Paulo, Brasil: aspectos macroscópicos,

histopatológicos e pesquisa de micobactérias. **Revista de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo** (SP), v. 31, n. 4, p. 391-397, 1997.

- 3 - BALIAN, S. C. **Infecção oral pelo complexo *Mycobacterium avium* (MAC) em hamster (*mesocricetus auratus*)**. Estudo bacteriológico e histológico. 1999. 53f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, E.M.D.; MORAIS, Z.M.; TABATA, R.; DIAS, R.A.; LEÃO, S.C.; MORÉS, N.; GUERRA, J.L.; VASCONCELLOS, S.A.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, S.R.; BALIAN, S.C.; FERREIRA NETO, J.S. Avaliação da virulência em hamsters (*Mesocricetus auratus*) de estirpes de *Mycobacterium avium* presentes na população de suínos do sul do Brasil. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v.39, n.4, p.202-207, 2002.

4 - BERMUDEZ, L. E.; PETROFSKY, M.; KOLONOSKI, P. An animal model of *Mycobacterium avium* complex disseminated infection after colonization of the intestinal tract. **The Journal of Infections Diseases**, v. 165, n. 1, p. 75-79, 1992.

5 - BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Animal – LANARA. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. 2ª Revisão. Brasília: LANARA, 1991/1992, 136 p.

6 - BROOKS, O. H. Observations on outbreaks of battey type mycobacteriosis in pigs raised on deep litter. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, p. 424-425, 1971.

7 - CASTRO, A. F. P.; CAMPEDELLI FILHO, O.; WAISBICH, E. Opportunist mycobacteria isolated from the mesenteric lymph nodes of apparently healthy pigs in São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 74-83, 1978.

8 - CHARETTE, R.; MARTINEAU, G. P.; PIGEON, P.; TURCOTTE, C.; RIGGINS, R. An outbreak of granulomatous lymphadenitis due to *Mycobacterium avium* in swine. **Canadian Veterinary Journal**, v. 30, n. 8, p. 675-678, 1989.

9 - EVERITT, J.; ACLAND, H. M.; WHITLOCK, R. H. Mycobacterial infection in swine. **California Veterinarian**, v. 36, n. 3, p. 16-18, 1982.

10 - FALKINHAM, J. O. III Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. **Clinical of Microbiology Review**, v. 9, p. 177-215, 1996.

11 - FERREIRA NETO, J. S.; PINHEIRO, S. R.; MORAIS, Z. M.; SINHORINI, I. L.; ITO, F. H.; VASCONCELLOS, S. A. Avaliação quantitativa da concentração de micobactérias em órgãos e humores de hamster experimentalmente infectados com *Mycobacterium bovis*, estirpe NA 5. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 31, n. 2, p. 131-139, 1994.

12 - GARDNER, I. A.; HIRD, D. W. Environmental source of mycobacteriosis in a California swine herd. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 33-37, 1989.

13 - HORSBURGH, JR., C. R. Epidemiology of *Mycobacterium avium* Complex disease. **American Journal Medicine**, v. 102, n. 5, p. 11-15, 1997.

14 - INDERLIED, C. B. The *Mycobacterium avium* complex. **Clinical Microbiology Review**, v. 6, n. 3, p. 266-310, 1993.

15 - JEPERSEN, A.; BENTZON, M. W. The virulence of various strains of BCG determined on the golden hamster. **Acta Tuberc. Pneumol. Scand.**, v.44, p.222-249, 1964.

16 - LONG, E. G.; EWIN JR., E. P.; BARTLETT, J. H.; HORSBURGH JR., C. R.; BIRKNESS, K. A.; YAKRUS, M. A.; NEWMAN, G. W.; QUINN, F. D. Changes in the virulence of *Mycobacterium avium* after passage through embryonated hens' eggs. **FEMS Microbiology Letters**, v. 190, p. 267-272, 2000.

17 - MASLOW, J. N.; DAWSON, D.; CARLIN, E. A.; HOLLAND, S. M. Hemolysin as a virulence factor for systemic infection with isolates of *Mycobacterium avium* complex. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 445-446, 1999.

18 - OLIVEIRA, S. J. Tuberculose em suínos. **A Hora Veterinária**, v. 9, n. 49, p. 31-36, 1989.

19 - PAVLIK, I.; SAVASTOVA, P.; BARTL, J.; DVORSKA, L.; RYCHLIK, I. Relationship between IS901 in the *Mycobacterium avium* complex strains isolated from birds, animals, humans and the environment and virulence for poultry. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 7, n. 2, p. 212-217, 2000.

20 - PRITCHARD, W. D.; THOEN, C. O.; HIMES, E. M.; MUSCOPLAT, C. C.; JOHNSON, D. W. Epidemiology of mycobacterial lymphadenitis in an Idaho swine herd. **American Journal of Epidemiology**, v. 106, n. 3, p. 222-227, 1977.

21 - REDDY, V. M.; LUNA-HERRERA, J.; GANGADHARAM, P. R. J. Pathobiological significance of colony morphology in *Mycobacterium avium* complex. **Microbial Pathogenesis**, v. 21, p. 97-109, 1996.

22 - REDDY, V. M. Mechanism of *Mycobacterium avium* complex pathogenesis. **Frontiers in Bioscience**, v. 3, p. 525-531, 1998.

23 - REZNIKOV, M.; LEGGO, J. H.; TUFFLEY, R. E. Further investigation of na outbreak of mycobacterial lymphadenitis at a deep-litter piggery. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, n. 12, p. 622-623, 1971.

24 - REZNIKOV, M.; STRANGER, R. S.; LEGO, J. H.; YOUNG, A. V. Mycobacterial lymphadenitis in pigs on the darking downs. **Australian Veterinary Journal**, v. 49, n. 5, p. 264-265, 1973.

25 - SIRCILI, M. P. **Caracterização molecular de amostras de Mycobacterium avium isoladas de suínos na região sul do Brasil. 1999.** 84 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Imunologia) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

26 - SONGER, J. G.; BICKNELL, E. J.; THOEN, C. O. Epidemiological Investigation of Swine Tuberculosis in Arizona. **Canadian Journal Comparative Medicine**, v. 44, n. 1, p. 115-120, 1980.

27 - THORNS, C.J.; MORRIS, J. A.; LITTLE, W. A. A. A spectrum of immune responses and pathological conditions between certain animal species to experimental *Mycobacterium bovis* infection. **British Journal Experimental Pathology**, v.63, p. 562-572, 1982.

28 - YACHIDA, S.; SHIMIZU, K. Studies on atypical mycobacteria isolated from tuberculous lesions of the mesenteric lymph nodes of slaughtered pigs. **Japanese Journal Veterinary Science**, v. 35, n. 6, p. 459-471, 1973.

Recebido para publicação: 20/02/2002
Aprovado para publicação: 21/05/2002