

PERÍODO DE INFECTIVIDADE DE ANIMAIS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE
COM *YERSINIA* sp*

Beatriz Maria Machado de Medeiros**
Mario Tsunezi Shimizu***
Deise Pasetto Falcão**

MEDEIROS, B.M.M. de et al. Período de infectividade de animais inoculados experimentalmente com *Yersinia* sp. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 21: 261-4, 1987.

RESUMO: Lotes de camundongos suíços convencionais foram inoculados tanto por via intragástrica (IG) quanto por via intravenosa (IV) com *Yersinia enterocolitica* dos sorotipos 0:3, 0:8 e 0:9 e com amostras de yersinias atípicas. Foi mantido um lote de animais não inoculados como controle. Verificou-se qual o período de permanência dessas bactérias no intestino dos animais inoculados. *Yersinia enterocolitica* dos sorotipos 0:3, 0:8 e 0:9, considerados adaptados ao homem, permaneceram no intestino dos animais inoculados por um período muito maior do que as amostras de *Yersinia* não adaptadas, quer inoculadas por via intragástrica, quer por via intravenosa.

UNITERMOS: *Yersinia enterocolitica*. Camundongos, microbiologia. Infecções por *Yersinia*, microbiologia.

INTRODUÇÃO

Infecções humanas por *Yersinia enterocolitica*, principalmente enterites, ocorrem com frequência, sempre associadas a determinados sorotipos^{1,6,10}.

A noção de adaptação de certas amostras de *Yersinia* a um ou vários hospedeiros é de grande importância no estudo desse grupo de microrganismos. Sabe-se que certas amostras têm um habitat preferencial ou um hospedeiro quase que exclusivo, no qual manifestarão seu poder patogênico⁷. Os biotipos 2 e 4 são adaptados ao homem, enquanto os outros biotipos e as yersinias atípicas não o são. Esses biotipos adaptados ao homem estão quase sempre associados aos sorotipos 0:3 e 0:9 e menos freqüentemente ao 0:8.

Uma série de trabalhos vêm sendo desenvolvidos em nosso laboratório, na tentativa de elucidar alguns aspectos ainda obscuros a respeito desses microrganismos. Um desses aspectos refere-se ao período de permanência de cepas de *Yersinia* consideradas adaptadas ao homem, no intestino de camundongos infectados experimentalmente. Em trabalho anterior⁴ esse animal mostrou-se um bom modelo nesse tipo de estudo.

Foram feitos alguns relatos sobre o período de eliminação de *Y. enterocolitica* em animais infectados experimentalmente com cepas de diferentes sorotipos, inoculados em diferentes espécies de animais por diferen-

tes vias^{2,5,8,9,11}, não existindo entretanto, dados a respeito, com amostras de yersinias atípicas.

Estudos realizados por Falcão e col.⁴ mostram que amostras de *Yersinia* adaptadas ao homem, quando inoculadas por via intragástrica, têm a capacidade de invadir vários órgãos e tecidos, onde permanecem por períodos variáveis, proliferando ou não. Amostras não adaptadas não apresentam capacidade invasora.

O objetivo do presente trabalho foi o de infectar camundongos suíços convencionais com *Yersinia enterocolitica* dos sorotipos mais freqüentemente associados com doenças no homem, e com *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii* e *Y. intermedia* e verificar o período de permanência no intestino desses animais, tentando-se, assim, estabelecer o período de infectividade desses microrganismos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais de experimento: camundongos suíços, fêmeas, albinos, com 6 a 8 semanas de idade.

2. Amostras bacterianas: foram estudadas sete amostras de *Yersinia*, cujas características são apresentadas na Tabela 1.

* Trabalho financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Processo nº 40.2822/81, e pela Comissão de Projetos Especiais da UNESP, Processo nº 3429/82.

** Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Rua Expedicionários do Brasil, 1621 - 14800 - Araraquara, SP - Brasil.

*** Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Av. Engenheiro Francisco José Longo, 777 - 12200 - São José dos Campos, SP - Brasil.

TABELA 1

Características das amostras de *Yersinia* estudadas.

Amostra	Espécie	Bio-tipo	Soro-tipo	Liso-tipo	Origem
FCF-59	<i>Y. enterocolitica</i>	4	0:3	VIII	humana
IP-2707	<i>Y. enterocolitica</i>	2	0:8	X _z	humana
IP-373	<i>Y. enterocolitica</i>	2	0:9	X _z	humana
FCF-13	<i>Y. intermedia</i>		0:18	X _z	leite cru
FCF-61	<i>Y. kristensenii</i>		0:9	X _z	leite cru
IP-8180	<i>Y. frederiksenii</i>		0:16	X _z	leite cru

3. Esquema de inoculação:

a) Via intragástrica: os camundongos foram inoculados com o auxílio de uma sonda de polivinil flexível, com 10⁷ a 10⁸ células de *Yersinia* do sorotipo correspondente.

b) Via intravenosa: os camundongos foram inoculados através de injeção na veia da cauda dos animais, com 10⁷ a 10⁹ células de *Yersinia* com exceção do sorotipo 0:8, cuja dose foi de apenas 10³ células por se tratar de uma dose sub-letal.

4. Período de eliminação:

Cada amostra foi inoculada em 2 lotes constituídos cada um por 60 camundongos, sendo os do primeiro lote inoculados por via intragástrica, os do segundo por via intravenosa; um terceiro lote de animais normais foi utilizado como controle.

Os camundongos foram observados por um período de 10 semanas e grupos de 5 sacrificados periodicamente: animais inoculados com *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* e *Y. kristensenii* após 6 horas, 1 dia, 3 dias e a seguir semanalmente; os inoculados com *Y. enterocolitica* dos sorotipos 0:3, 0:8 e 0:9 foram sacrificados semanalmente. De cada animal retirava-se cerca de 1/3 do ceco o qual foi homogeneizado e diluído em caldo simples e semeado em Agar MacConkey. As placas foram incubadas a 25°C por 48 h. As colônias suspeitas

foram submetidas a caracterização sorológica. O caldo simples restante foi incubado a 4°C para enriquecimento. Nos casos de cultura negativa para *Yersinia* no primeiro isolamento, realizava-se semeadura a partir do caldo simples enriquecido a frio em placas de Agar MacConkey, semanalmente até o máximo de 21 dias. Essas placas foram incubadas a 25°C por 24-48 h e as colônias suspeitas submetidas à caracterização sorológica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do período de eliminação das yersinias, através das fezes dos animais infectados, por via intragástrica e intravenosa, encontram-se na Tabela 2.

A *Y. enterocolitica* 0:3, considerada patogênica, inoculada nos animais por via intragástrica, numa dose de 1,2.10⁸ células, foi detectada no intestino até 35 dias após a inoculação. Quando inoculada por via venosa, na dose de 3,0.10⁸ células, foi eliminada pelas fezes durante 49 dias. Esses períodos são um pouco maiores do que os relatados na literatura. Assim, Alonso e col.², trabalhando com o mesmo tipo de animais, mas inoculados por via IV com uma amostra do sorotipo 0:3, observaram um período de eliminação de mais de 14 dias. Pearson e col.⁹, trabalhando com a mesma amostra inoculada por via intraperitoneal, obtiveram um período de eliminação de apenas 20 dias. Ogata e col.⁸, trabalhando com coelhos albinos e camundongos "specific pathogen free" (ICR) inoculados por via IV e por via oral, observaram um período de eliminação de 21 a 28 dias, mais próximo ao encontrado na presente pesquisa.

A *Y. enterocolitica* do sorotipo 0:8, utilizada nestes experimentos é a amostra WA, isolada por Carter³, altamente patogênica para camundongo e para o homem. Nossos resultados mostram que os animais inoculados por via intragástrica, com uma dose de 4.10⁷ células, eliminaram a bactéria durante 63 dias. Pearson e col.⁹, utilizando camundongos "Porton white" inoculados com a mesma dose e pela mesma via, verificaram que os animais excretavam a amostra WA por um período

TABELA 2

Presença de *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* e *Y. kristensenii* no conteúdo cecal de grupos de 5 camundongos infectados experimentalmente por via intragástrica (IG) e por via intravenosa (IV)

Período após infecção	Y.e. 0:3		Y.e. 0:8		Y.e. 0:9		Y. <i>intermedia</i>	Y. <i>frederiksenii</i>		Y. <i>kristensenii</i>		Grupo Controle
	IG	IV	IG	IV	IG	IV		IG	IV	IG	IV	
6 horas	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+	NT	NT	NT	—
1 dia	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+	+	+	—	—
3 dias	NT	NT	NT	NT	NT	NT	—	—	—	+	—	—
7 dias	+	+	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—
14 dias	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
21 dias	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
28 dias	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
35 dias	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
42 dias	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
49 dias	—	+	+	NT	+	+	—	—	—	—	—	—
56 dias	—	—	—	NT	+	—	—	—	—	—	—	—
63 dias	—	—	+	NT	+	—	—	—	—	—	—	—
70 dias	—	—	—	NT	+	—	—	—	—	—	—	—

NT = não testado

Y.e. = *Yersinia enterocolitica*

de até 123 dias. De acordo com a Tabela 1, observa-se que quando os animais foram inoculados por via IV, numa dose de $1,5 \cdot 10^2$ células, a bactéria foi encontrada nas fezes até 42 dias após a infecção, depois do que, os animais remanescentes morreram. Maruyama e col.⁵, inoculando cerca de $10^6 - 10^8$ de *Y. enterocolitica* 0:8 WA em camundongos, pela mesma via, recuperaram a bactéria até 61 dias após a inoculação.

Os animais inoculados por via IG, com $1,5 \cdot 10^7$ células de *Y. enterocolitica* do sorotipo 0:9, excretaram a bactéria, durante todo o período de observação (70 dias) e os inoculados por via IV, com $8 \cdot 10^7$ células, durante 49 dias. Estes resultados são semelhantes ao observado na literatura^{5,9,11}.

Quanto aos resultados obtidos com as yersinias atípicas, consideradas não adaptadas ao homem e portanto não patogênicas, verificou-se que essas amostras são rapidamente eliminadas do intestino. Inoculando-se cerca de $5 \cdot 10^7$ células de *Y. intermedia* por via IG e $1 \cdot 10^8$ células por via IV, o período de permanência foi de 1 dia, em ambos os casos. Quando se inoculou $5 \cdot 10^8$ células de *Y. frederiksenii*, por via IG, o microrganismo permaneceu no intestino também por 1 dia, enquanto que, quando inoculada por via IV ($1 \cdot 10^9$ células), per-

maneceu nesse local por 7 dias. Os animais inoculados com *Y. kristensenii* não eliminaram bactérias em nenhum dos períodos estudados.

Os resultados obtidos, após inoculação intragástrica e intravenosa, mostram diferenças importantes de comportamento. O período de permanência no intestino dos animais de *Y. enterocolitica* dos sorotipos 0:3, 0:8 e 0:9, foi consideravelmente maior quando comparado com aquele apresentado pelas yersinias atípicas, que são tidas como não adaptadas ao homem, e que foram detectadas por um curto período de tempo.

Esses resultados mostram que o tempo de permanência de *Yersinia* no intestino dos camundongos, onde podem ou não se colonizar, é diretamente proporcional à sua capacidade de adaptação ao homem, conseqüentemente à sua provável capacidade de causar doenças, quer quando inoculadas por via intragástrica quer por via intravenosa.

Mostram também que o período de infectividade das yersinias causadoras de doença no homem, quando inoculadas em camundongos é bem mais longo que das consideradas como yersinias ambientais, tornando as primeiras mais patogênicas em decorrência do período maior que são eliminadas com as fezes.

MEDEIROS, B.M.M. de et al. [Period of infectivity of animals challenged by *Yersinia* sp]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 21: 261-4, 1987.

ABSTRACT: Conventional swiss mice were inoculated intragastrically (IG) and intravenously (IV) with *Yersinia enterocolitica* serotypes 0:3, 0:8 and 0:9 and with *Yersinia enterocolitica* like strains. A control animal group was not inoculated. The period that strains remained in the cecal content after the IG and IV challenge was determined. After IG and IV inoculation, *Yersinia enterocolitica* serotypes 0:3, 0:8 and 0:9, considered adapted to man, were isolated from the cecal content for a longer period than those considered nonadapted.

UNITERMS: *Yersinia enterocolitica*. Mice, microbiology. *Yersinia*, infections, microbiology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHVONEN, P. *Yersinia enterocolitica* infections in Finland. In: International Symposium on *Yersinia*, *Pasteurella* and *Francisella*, Malmö, 1972. *Proceedings*. Basel, Karger, 1973. p. 133-4.
- ALONSO, J.M.; MAZIGH, D.; BERCOVIER, H.; MOLLARET, H.H. Infection expérimentale de la souris par *Yersinia enterocolitica* (souche du chimiotype 4, du sérogrupo 0:3, du lysotype VIII): devenir de l'inoculum chez des souris athymiques on traitées par le cyclophosphamide. *Ann. Microbiol.*, **129B**: 27-36, 1978.
- CARTER, P.B.; VARGA, C.F.; KEET, E.E. New strain of *Yersinia enterocolitica* pathogenic for rodents. *Appl. Microbiol.*, **26**: 1016-8, 1973.
- FALCÃO, D.P.; SHIMIZU, M.T.; TRABULSI, L.R. Kinetics of infection induced by *Yersinia*. *Curr. Microbiol.*, **11**: 303-8, 1984.
- MARUYAMA, T.; UNE, T.; ZEN-YOJI, H. - Observations on the correlation between pathogenicity and serovars of *Yersinia enterocolitica* by the assay applying cell culture system and experimental mouse infection. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, **5**: 317-23, 1979.
- MOLLARET, H.H.; BERCOVIER, H.; ALONSO, J.M. Summary of the data received at the WHO Reference Center for *Yersinia enterocolitica*. In: International Symposium on *Yersinia*, 3rd, Montreal, 1977. *Yersinia enterocolitica: biology, epidemiology and pathology*. Basel, Karger, 1979. p. 174-84. (Contribution to Microbiology and Immunology, v. 5).
- MOLLARET, H.H. Curso "*Yersinia*". [Apresentado ao Congresso Latino-Americano de Microbiologia, 9^o, São Paulo, 1983/Congresso Brasileiro de Microbiologia, 12^o, São Paulo, 1983].
- OGATA, S.; KANAMORI, M.; MIYASHITA, K. Antige-

- nicity of protein and lipopolysaccharide from *Yersinia enterocolitica*. *Contr. Microbiol. Immunol.*, 5: 64-72, 1979.
9. PEARSON, A.D.; RICCIARDI, I.D.; WRIGHT, D.H.; SUCKLING, W.G. An experimental study of the pathology and ecology of *Yersinia enterocolitica* infection in mice. *Contr. Microbiol. Immunol.*, 5: 335-45, 1979.
10. RABSON, A.R. & KOORNHOF, H.J. *Yersinia enterocolitica* infections in South Africa. In: International Symposium on *Yersinia*, *Pasteurella* and *Francisella*, Malmo, 1972. *Proceedings*. Basel, Karger, 1973, p. 102-5.
11. UNE, T. Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica*. I - Experimental infection in rabbits. *Microbiol. Immunol.*, 21(7): 349-63, 1977.

Recebido para publicação em 20/10/1986

Reapresentado em 20/2/1987

Aprovado para publicação em 26/2/1987