

# HANSENÍASE EXPERIMENTAL

Suzana Madeira  
Patrícia Sammarco Rosa

Alguns modelos animais têm sido ou foram muito importantes no estudo de várias doenças que acometem o ser humano, como por exemplo na tuberculose. A demora no desenvolvimento de um modelo animal apropriado para o estudo da hanseníase foi um obstáculo para a realização de algumas pesquisas.

O modelo experimental ideal para o estudo da hanseníase deveria ser um animal imunologicamente normal que: (1) apresentasse o espectro clínico da doença e episódios reacionais e (2) que desenvolvesse neurite em nervos periféricos com seqüelas neuropáticas. Espécies filogeneticamente próximas ao ser humano deveriam ser capazes de exibir essas alterações, serem bem adaptadas ao meio laboratorial, terem um tempo de sobrevida suficiente para acompanhar o curso da infecção e os custos com manutenção e criação serem baratos.

Como o controle da hanseníase depende da detecção e tratamento de pacientes com formas clínicas multibacilares, muitas pesquisas têm concentrado os seus estudos na patogênese e tratamento dessas formas. Sendo assim, os modelos animais que são capazes de desenvolver a hanseníase de forma disseminada são os mais indicados para a realização de estudos experimentais.

Cerca de 30 espécies de animais já foram inoculadas com o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), utilizando-se as mais diversas vias, porém, os resultados foram limitados ou de curta duração.

O primeiro trabalho experimental a apresentar resultados satisfatórios com disseminação da doença foi obtido através de inoculação em pele, nervo, cavidade peritoneal e corrente sanguínea de um chimpanzé. Biópsias realizadas no animal indicaram a forma clínica dimorfa ou borderline (BB-BL). Em 1956, Binford apresentou aos participantes da "1ª Carville Conference on Progress and Potentials in Leprosy Research" a hipótese de que a distribuição das lesões hansênicas estavam relacionadas a áreas ou locais do corpo de menor temperatura. Observações clínicas feitas por ele e comentários feitos por Virchow; em 1863, serviram de suporte para a formulação dessa hipótese.

A transmissão da hanseníase para o coxim plantar de camundongos realizada por Shepard em 1960 e a inoculação em tatus foram realizadas com base na hipótese de que o crescimento do *M. leprae* deveria ocorrer; seletivamente, em locais do corpo de temperatura mais baixa. A partir daí, a pesquisa da doença envolvendo esses dois modelos experimentais obteve um grande avanço, principalmente nos últimos anos.

## **Camundongos Camundongos normais**

O sucesso obtido por Shepard inoculando camundongos normais da estirpe CFW com o bacilo de Hansen foi um importante passo na realização de pesquisas em hanseníase. Antes do desenvolvimento desse modelo, o índice bacilar era o parâmetro utilizado para se avaliar os efeitos das drogas anti-hansênicas no paciente, impli-

cando em alguns aspectos éticos da quimioterapia.

A inoculação de  $5 \times 10^3$ ; a  $10^4$  de bacilos em um volume de 0,03 ml no coxim plantar traseiro de um camundongo normal alcança, após 120-240 dias, aproximadamente  $10^6$  de bacilos/pata (Fig. 2). O número total de bacilos permanece constante por cerca de um ano, quando entram na fase de declínio, porém, o número de bacilos viáveis diminui mais rapidamente, ou seja, logo depois do *plateau* ( $10^6$  bacilos) ter sido alcançado. A dose mínima infectante é de aproximadamente 1-10 bacilos viáveis por coxim plantar. O método mais utilizado de contagem bacilar é o proposto por Shepard & McRae. As estirpes de camundongos BALB/c, CBA, CFW e DBA parecem produzir níveis mais altos de infecção do que outras estirpes e a resistência apresentada por algumas delas, tal como a C57BL, pode estar relacionada a fatores genéticos como produção de superóxido pelos macrófagos e a resposta proliferativa de células T ao bacilo e aos antígenos micobacterianos. Macroscopicamente não ocorre mudança na pata infectada. As alterações histopatológicas aparecem cerca de três meses após a inoculação e consistem em pequenos infiltrados de macrófagos e linfócitos. Alguns macrófagos apresentam agrupamentos de bacilos, podendo também exibir células epitelióides modificadas e granulomas pouco organizados. Em alguns casos, o bacilo pode invadir nervo e perinervo. Não ocorre disseminação sistêmica.

## **Utilização do camundongo normal como modelo experimental de hanseníase**

1- Terapêutica: a inoculação em coxim plantar é um método eficiente para testar ação e eficácia de drogas anti-hansênicas. Três métodos foram estabelecidos para avaliar o potencial de atividade das drogas: contínuo, cinético e proporcional bactericida. O método contínuo consiste em administrar a droga em dosagem máxima, porém tolerável, no momento da inoculação; animais controle (não tratados) são monitorados até atingirem o *plateau* de crescimento bacilar. A contagem bacilar é realizada nos dois grupos de animais e os resultados comparados para que a dosagem mínima efetiva e concentração inibitória mínima sejam determinadas. Este método não permite diferenciar se a droga possui atividade bactericida ou bacteriostática. No método cinético, a droga é administrada durante dois meses, a partir do 2º mês de inoculação, quando então é interrompida. O número de bacilos recuperado dos animais tratados e o controle é determinado. O tempo necessário para que o *plateau* de crescimento bacilar nos animais tratados seja alcançado e o parâmetro para se determinar o tipo de atividade da droga. Se a droga possuir ação bacteriostática esse tempo será de 60 à 70 dias; períodos maiores indicam atividade bactericida. O método proporcional bactericida também é para diferenciar entre atividade bactericida e bacteriostática. Grupos de animais são inoculados com diferentes concentrações de bacilo ( $10^1$ - $10^4$ ) e a droga administrada nos dois primeiros meses pós-inoculação. Após 12 meses de inoculação, os animais são sacrificados para a realização da contagem bacilar, sendo que o número de bacilos mortos é calculado pela estimativa do provável número de organismos que iriam produzir os resultados obtidos.

2- Resistência às drogas: a detecção de bacilos resistentes deu início à aplicação do modelo de inoculação em coxim plantar de

camundongos. Pettit & Rees, em 1964, foram os primeiros a utilizarem esse modelo para padronizar um método de detecção de resistência secundária à dapsona. Em 1976, Jacobson & Hastings, seguindo a mesma linha, estabeleceram uma metodologia para detecção de bacilos resistentes a rifampicina. Os métodos consistem em administração contínua da droga. Para a detecção da sensibilidade à dapsona são utilizadas dietas contendo três concentrações: 0,0001%, 0,001% e 0,01%. Essas concentrações abrangem a variação de sensibilidade de cepas susceptíveis até níveis que estejam próximos de tóxicos para o camundongo.

3- Imunidade: Camundongos normais, quando inoculados intradermicamente com bacilos mortos pelo calor; desenvolvem uma hipersensibilidade específica do tipo tardia, porém quando a inoculação ocorre por via intravenosa, eles não desenvolvem esse tipo de resposta imune, sendo considerados tolerantes. Camundongos normais submetidos à inoculação em coxim plantar são imunes à reinfeção. Níveis quase idênticos de imunidade à infecção pelo *M. leprae* podem ser induzidos através da inoculação intradérmica de bacilos mortos intactos ou BCG vivos. Em 1989, Moudgil et al. mostraram uma correlação positiva entre os níveis de anticorpos para antígenos do *Mycobacterium w* e PGL-1, e o número de bacilo/ coxim plantar de camundongos normais infectados com *M. leprae*.

4- Viabilidade: várias pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de se estudar a viabilidade do bacilo fora do organismo humano. A viabilidade pode ser avaliada tendo como base a multiplicação bacilar no coxim plantar de camundongos. A partir de uma biópsia de paciente hanseniano não tratado, Desikan et al. submeteram os bacilos a algumas condições adversas, inoculando em seguida o material nos animais. Quando mantidos à temperatura de 4°C e em solução salina, os bacilos permaneceram viáveis por até 60 dias, por outro lado, esse tempo diminuiu para 28 dias quando a temperatura foi -70°C; submetendo os bacilos à incidência direta da luz por 3 horas, eles sobreviveram por até 7 dias. Soluções antissépticas e álcool são capazes de matar rapidamente os bacilos.

### **Nude mice**

O camundongo nude (nu/nu) foi descrito pela primeira vez por Flanagan em 1966, e em 1968, Pantelouris descobriu que essa linhagem era congenitamente atímica. São animais que se forem criados em biotérios convencionais, sobrevivem por apenas seis meses; em biotérios "livre de patógenos específicos" (SPF-Specific Pathogenous Free), esses animais podem sobreviver por até 2 anos. Em 1975, Prabhakaran et al. introduziram essa linhagem nas pesquisas de hanseníase, inoculando o bacilo no coxim plantar do nude (nu/nu) e de camundongos normais. Eles observaram os animais dos dois grupos por apenas seis meses e não encontraram diferença significativa no processo infeccioso e nem disseminação da doença para outras áreas do corpo do animal. Posteriormente, Colston & Kosaka reproduzindo o experimento, observaram a disseminação do bacilo em alguns camundongos nude 8 meses pós-inoculação. O número de bacilos, após 12 meses de inoculação, pode atingir  $10^{10}$  no coxim inoculado,  $10^{6-7}$  no coxim não inoculado, e

$10^{8-9}$  no fígado e baço após 18 meses de inoculação. O índice morfológico declina de 8-10% no 6° mês para 5-8% no 18° mês, sugerindo uma possível existência de mecanismos que estariam interferindo no crescimento. Karanth et al., estudando camundongos nude inoculados com o bacilo de Hansen, observaram a ausência de alguns neuropeptídeos em pele e coluna vertebral. Com base nessas descobertas, eles acreditam que esses animais possam ser um excelente modelo para o estudo de neuropatias em hanseníase.

### **Uso do nude mice como modelo para hanseníase**

1- Transmissão da hanseníase: Chehl et al. induziram camundongos nude à infecção, através de inoculação subcutânea e instilação intranasal com subsequente disseminação da doença; por exposição (pulmão, boca e estômago) e aplicação tópica em pele intacta e escarificada o resultado foi insatisfatório. Em 1990, McDermott-Lancaster & McDougall descobriram que a mucosa nasal e superfície da língua eram as melhores vias de infecção. Através da aplicação de uma suspensão bacilar em pele escarificada na região dorsal da pata do nude, Job et al. obtiveram uma intensa infecção local com disseminação para outras áreas. De particular interesse foi a susceptibilidade em locais diferentes, relacionada à temperatura; a aplicação tópica da suspensão na região dorsal do corpo não produziu infecção, por outro lado, no dorso do coxim plantar; onde a temperatura é menor (30° C), ocorreu infecção.

2- Quimioterapia: diversos autores têm relatado o uso (lesse modelo animal para estudos terapêuticos (resistência e viabilidade bacilar) em hanseníase, sendo a dapsona e rifampicina as drogas mais utilizadas nesses estudos. Em 1986, Ito et al. observaram que a clofazimina inibia a multiplicação do bacilo, quando administrada após 18 semanas de inoculação, durante 25-29 semanas; o papel dos agentes imuno-estimulatórios na terapia da hanseníase tem sido estudado nesse animal por Banerjee & McDermott-Lancaster.

3- Detecção de bacilos persistentes: pesquisadores observaram que o camundongo nude era melhor do que os camundongos normais ou timectomizados-irradiados para se detectar pequena quantidade de bacilos viáveis, quando na presença de um grande número de bacilos mortos.

### **Camundongo timectomizado**

Em 1966, Rees observou o desenvolvimento da hanseníase em camundongos CBA, adultos, que haviam sido timectomizados e irradiados, e em seguida inoculados com *M. leprae* no coxim plantar e orelha. Em estudos iniciais, ele observou um aumento no volume do coxim inoculado, que não era observado em camundongos normais. Em 1967, o mesmo pesquisador juntamente com outros colaboradores, revelaram que camundongos timectomizados e irradiados poderiam ser inoculados com uma grande quantidade de bacilo, através de inoculação intravenosa ou intracutânea. No entanto, a descoberta mais importante foi a disseminação da doença para áreas mais frias do corpo, com 95% dos bacilos infectando coxim plantar, orelha e nariz e apenas 2% as vísceras. A sobrevivência de camun-

longos, submetidos à timectomia e irradiação com proteção de um dos fêmures durante o processo de irradiação, é maior do que entre os animais que não são protegidos e que recebem transplante de medula. Animais protegidos durante o processo de irradiação e não transplantados são altamente suscetíveis à infecção pelo *M. leprae*.

## Ratos

### Ratos timectomizados

Em 1965, Hilson obteve sucesso ao inocular o *M. leprae* em coxim plantar de ratos normais, sendo o processo de infecção semelhante àquele obtido em camundongos normais. Porém, em 1971, outros pesquisadores descobriram que ratos Lewis (neonatos) timectomizados desenvolviam um processo infeccioso mais agressivo, com até  $10^8$  bacilos/pata. A inoculação por via intravenosa produz a disseminação da doença de forma semelhante à observada em camundongos imunossuprimidos. O coxim plantar pode ser infectado com  $10^7$  ou mais de bacilos, sendo possível a detecção de um pequeno número de viáveis. Dawson et al., investigando a susceptibilidade de ratos atímicos ao *M. leprae*, inocularam  $5 \times 10^3$  de bacilos/coxim plantar, recuperando até  $2,6 \times 10^8$  de bacilo, após 10 meses de inoculação; a disseminação para orelhas, nariz e cauda iniciaram por volta do 9º mês pós-inoculação. Apesar da perda de produção das células T timo-dependentes, os ratos atímicos parecem ser capazes de limitar o processo de infecção.

### Camundongos "severe combined immunodeficient" - SCID

Os camundongos SCID possuem uma deficiência muito intensa de linfócitos T e B, podendo ser bastante suscetíveis à infecção pelo bacilo de Hansen. A partir de um inóculo de  $4,8 \times 10^6$  /coxim plantar, a multiplicação bacilar pode ser detectada 3 meses pós- inoculação, produzindo até  $1,2 \times 10^9$  bacilos/pata em 8 meses. Por volta do 5º mês pode-se encontrar bacilo em linfonodos regionais e no 8º, na cauda, testículo, epididimo, fígado e baço. Xabier et al., entretanto, observaram que esses animais são capazes de conter a infecção, impedindo a disseminação da doença, sugerindo que macrófagos e células "natural killer" estariam envolvidos nesse processo.

## Outros roedores

**Esquilo coreano** (tâmia — *Tamias sibiricus asiaticus*): a partir de um inóculo de  $10^6$  de bacilos/pata, foi possível recuperar, 10 meses pós-inoculação,  $2 \times 10^{10}$  de bacilos/pata; o exame histopatológico revelou lepromas típicos, com invasão de nervos. Não há outros trabalhos publicados utilizando esse modelo experimental.

Esquilo (*Citellus tridecemlineatus*): Galletti et al., na Itá-lia inocularam *M. leprae* nessa espécie de esquilo, considerando a baixa temperatura corpórea nesses animais durante o período de hibernação, quando ocorre uma imunossupressão com involução de linfonodos e timo. Inoculação intradérmica de  $1,2 \times 10^6$  de bacilos, durante o período de hibernação, produz até  $4,5 \times 10^7$  de bacilos, com índice de viabilidade alto, 50 dias pós-inoculação. Os bacilos tendem

a desaparecer durante o verão, quando os esquilos são mais ativos, reaparecendo durante o 2º período de hibernação, alcançando de  $10^7$  à  $10^{10}$  de bacilos/grama de tecido, com aparente disseminação para pulmões, baço e rins. Todos animais inoculados morrem durante o 2º período de hibernação, provavelmente em decorrência do processo infeccioso. Essas descobertas são interessantes pois relatam aspectos da patogênese da imunossupressão e baixas temperaturas, porém, não é um modelo experimental aceitável para a hanseníase.

## Ouriço europeu

Pesquisadores inocularam *Mycobacterium leprae*, em pele e corrente sanguínea de uma espécie de ouriço denominada *Erinaceus europeu*, conseguindo, após 13 meses de inoculação na pele, o desenvolvimento de uma lesão dimorfa. Em animais inoculados através das duas vias, houve a formação de lesões disseminadas. Esses animais possuem temperatura média corpórea de 35-36°C no verão, porém, quando estão em processo de hibernação, essa temperatura diminui em aproximadamente 1°C. Poucos desses animais sobrevivem em condições normais de laboratório, o que inviabiliza o seu uso como modelo experimental em hanseníase.

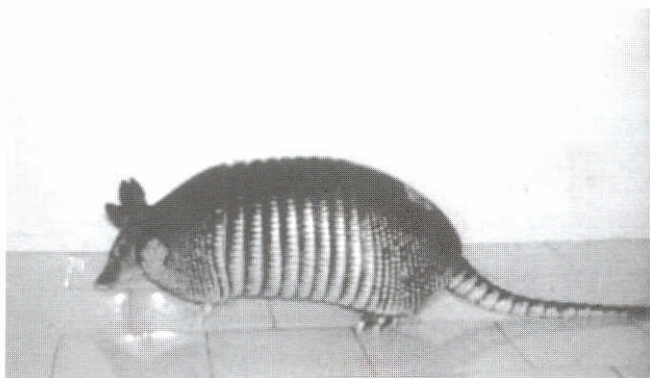
## Tatus

### Tatu na hanseníase experimental

Tatus são mamíferos primitivos da Superordem Edentata, Ordem Xenarthra, e família Dasylxidae que são encontrados somente nas Américas. Existem cerca de 20 espécies de tatus descritas, e só no Brasil há 17 espécies conhecidas. A espécie mais amplamente estudada é o *Dasytus novemcinctus* (Linnaeus, 1758), comumente conhecido como tatu de nove bandas, a única espécie nativa dos Estados Unidos.

Aspectos reprodutivos e genéticos do tatu têm sido estudados por muitos anos. As fêmeas de tatus apresentam gêmeos homozigotos quádruplos. O período de acasalamento é durante o verão, e os partos ocorrem durante a primavera, sendo a gestação dividida em duas fases, implantação do blastocisto (14-16 semanas) e desenvolvimento dos embriões (16 semanas). Poucos ectoparasitas são encontrados nos tatus, no entanto, alguns cestódeos (*Oochoristica*), trematódeos (*Dictyonograptus* e *Brachylaemus*), nematódeos (*Strongyloidea*: *Macielia Delicata*, *Pulchrostrongylus*, *Dasystrongylus*, *Moennigia*, *Pintonema*; Aspidodera: *Aspidodera*, *Cruzia*, *Lauroi*, *Heterakis*) e acantocefalos (*Travassosia*, *Hamanniella*, *Oncicola*) foram encontrados nestes animais.

Esses animais podem também ser reservatórios de outros microorganismos. No Brasil, Argentina, Venezuela, México e Estados Unidos foram encontrados alguns *D. novemcinctus* infectados por *Trypanosoma cruzi*. No Panamá, foram encontrados dois animais com espiroquetas da febre recorrente, e *Leishmania* sp. foi isolada de três tatus no norte do Brasil. Mais recentemente, o *Paracoccidioides brasiliensis* foi isolado de baço e fígado de um tatu *D. novemcinctus*, sendo considerado um reservatório enzoótico desta enfermidade na região.



Tatu da espécie *Dasypus novemcinctus* capturado na região de Bauru - SP

### Inoculação experimental de tatus

O interesse do uso de tatus na pesquisa biomédica sofreu um incremento, quando foi observado que o tatu de nove bandas desenvolvia a forma disseminada da hanseníase, após a inoculação com bacilos derivados de lesões de pacientes com hanseníase virchoviana. A baixa temperatura corporal (30-35°C) característica da espécie, que seria uma exigência para a multiplicação do *M. leprae*, fez com que o tatu se tornasse um importante modelo experimental para estudo de diversos aspectos da hanseníase, além de ser utilizado para obtenção de bacilos em grandes quantidades (Fig. 3).

As lesões observadas em tatus inoculados não se limitam a nervos periféricos e pele, podendo ocorrer também comprometimento de linfonodos, fígado, baço, medula óssea, olhos, sistema nervoso central, testículos, ovários e pulmões. Os tatus inoculados por via endovenosa freqüentemente apresentam comprometimento de nervos periféricos, fígado, baço e linfonodos.

O período de incubação varia com a dose do inóculo e via de inoculação. Em animais susceptíveis, pode-se observar sinais da doença de 18 a 24 meses após a inoculação de  $10^7$  -  $10^8$  *M. leprae* por via endovenosa e 12 a 16 meses por via subcutânea. Doses mais baixas, inoculadas por via intracutânea, podem levar 4 a 5 anos para produzir a doença generalizada. A inoculação cutânea leva à formação de nódulos nos sítios de inoculação (hansenomas).

Alguns pesquisadores obtiveram êxito na inoculação experimental do *M. leprae* em tatus, Kirchner (1976) e Storrs (1971), dos EUA, Convit (1978) da Venezuela, Opromolla (1980) do Brasil e Quesada-Pascual (1987) do México.

As inoculações positivas obtidas na Venezuela e no Brasil são discordantes dos resultados obtidos nos EUA. Convit (1978) inoculou cerca de 70 tatus *Depus sabanicola* e 17 *D. novemcinctus* com  $10^8$  ou  $10^9$  *M. leprae* por animal. Dos 12 *sabanicola*, 2 animais apresentaram a doença generalizada e 17 animais apresentaram lesões modulares no período de 18 a 48 meses após a inoculação. Dos *D. novemcinctus*, apenas 1 animal apresentou nódulos no tórax. No Brasil, de 29 *D. novemcinctus* inoculados por Opromolla (1980),

apenas 3 animais tiveram inoculação positiva. Os resultados de inoculações obtidos na América do Sul sugerem que os tatus seriam mais resistentes do que os animais da Flórida e Louisiana.

### Aspectos imunológicos

A infecção do tatu de nove bandas com doses crescentes de bacilos mostraram que a maior parte dos animais é susceptível, independentemente da dose utilizada. A susceptibilidade de cerca de 80% dos animais à hanseníase foi observada em tatus nos EUA. Poucas tentativas foram feitas até o presente momento para tentar esclarecer quais são os fenômenos envolvidos na susceptibilidade do tatu ao *M. leprae*.

Em estudos de vacinas produzidas com *M. leprae* inativados pelo calor, inoculadas por via subcutânea, mostraram induzir reação de hipersensibilidade tardia e transformação de linfócitos, conferindo proteção aos tatus inoculados. O estudo de células mononucleares de tatus resistentes à infecção por *M. leprae* demonstraram resposta reduzida à Concanavalina A quando expostos ao antígeno. A disseminação da doença foi retardada e a vida dos animais prolongada quando mantidos com altos níveis de anticorpos IgG anti-PGL-1 após a inoculação com *M. leprae*.

Job (1987) afirmou que o teste de Mitsuda feito em tatus parece ser um bom indicador da susceptibilidade destes animais ao *M. leprae*. Em um estudo, 102 animais foram testados com Mitsudina e biopsiados após 21 dias. Foi determinada a prevalência de animais Mitsuda positivos e negativos, e os resultados foram correlacionados com os achados histopatológicos dos sítios de inoculação. As reações denominadas tuberculóide e dimorfa tuberculóide positivas foram encontradas em 8,8% dos animais, e estes foram considerados animais imunocompetentes. Foram considerados animais imunodeficientes os que apresentaram reações do tipo virchoviana e dimorfa virchoviana. Foi sugerido, então, que existe uma relação entre a resistência à hanseníase experimental e a resposta positiva à Mitsudina.

### Infecção natural em tatus

Tatus naturalmente infectados foram encontrados com prevalência variável de 4-29 % nos Estados Unidos. Ao exame histopatológico das lesões, foi observado que estas eram idênticas às obtidas experimentalmente, caracterizadas por infiltrados histiocitários com grande número de BAAR, havendo comprometimento de nervos, gânglios, baço e fígado.

Anticorpos anti PGL 1 foram detectados em soros de tatus anos antes de qualquer inoculação experimental, indicando que os animais foram naturalmente infectados. Sendo os tatus animais altamente susceptíveis à infecção pelo *M. leprae*, a entrada de bacilos em colônias de tatus proporcionaria a transmissão animal-animal por contato direto, trato respiratório, leite, e mesmo por via transplacentária.

Ainda que não tenha sido provado que a hanseníase possa

ser uma zoonose, a existência de bacilos em animais selvagens pode ter sérias implicações nos programas de controle e erradicação da doença em seres humanos.

### Primates não humanos

A associação filogenética entre o homem e primatas sugere que estes poderiam constituir um excelente modelo experimental para a hanseníase. Após a descoberta de chimpanzês e macacos mangabey naturalmente infectados, esforços foram feitos para se estabelecer primatas não humanos como modelos para estudo da hanseníase.

### Chimpanzé

A primeira transmissão experimental observada em chimpanzês (*Pan troglodytes*) foi em 1958. Mais tarde, em 1964, de 13 animais inoculados, 2 animais jovens desenvolveram lesões auto-limitadas do tipo dimorfa e tuberculóide.

Em 1975, a hanseníase do tipo dimorfa virchoviana foi detectada em um animal naturalmente infectado, proveniente de Serra Leoa, que havia sido inoculado com o vírus da leucemia bovina 2 meses antes de serem observados sinais indicativos de hanseníase. Foi sugerido que a imunodepressão causada pelo vírus pode ter levado ao desenvolvimento da hanseníase.

Em 1989, a hanseníase multibacilar foi diagnosticada em um chimpanzé de 18 anos, capturado aos 2 anos de idade. Também um animal de 28 anos, proveniente da África com 5 anos de idade, foi detectado com hanseníase multibacilar. Estudos sorológicos com estes animais e outros primatas em cativeiro mostraram que 10% dos animais tiveram algum contato prévio com o bacilo de Hansen.

### Macaco Mangabey

Em 1979, um macaco mangabey (*Cercocebus atys*) naturalmente infectado foi diagnosticado. O animal apresentava lesões do tipo virchoviano na face e patas. A partir daí, muitos animais foram inoculados experimentalmente por via intracutânea, endovenosa e instilação nasal. As doses utilizadas variaram de  $1,8 \times 10^7$  a  $4,8 \times 10^{10}$  bacilos, sendo que a dose infectante mínima é de  $4,8 \times 10^7$  bacilos. Foram utilizadas suspensões de bacilos provenientes de animais experimentalmente inoculados e de pacientes.

De 36 animais inoculados, 80% desenvolveram hanseníase disseminada em 6 a 30 meses após a inoculação. A neuropatia foi observada em 75% dos animais afetados. A inoculação intracutânea parece induzir à forma mais resistente da doença, enquanto a endovenosa, à forma mais anérgica. Um animal apresentou o quadro de eritema nodoso envolvendo o nervo tibial posterior. As vísceras continham apenas alguns poucos bacilos. Houve comprometimento ocular em alguns animais experimentalmente inoculados.

Estudos imunológicos mostraram que os animais tinham altas porcentagens de células T supressoras nas lesões e no sangue.

Macacos mangabey que apresentaram predomínio de IgG anti PGL1 são mais resistentes à hanseníase multibacilar do que os animais que apresentaram altos níveis de IgM.

As lesões observadas na histopatologia são semelhantes às observadas em humanos, havendo invasão de nervos por bacilos e com freqüentes danos severos. Foram observados espessamento do perineuro, rompimento do parênquima e infiltrados de histiócitos vacuolados ao redor dos nervos. Os animais que apresentaram complicações e risco de vida foram tratados com combinações de rifampicina, dapsona e clofazimina, havendo melhora clínica e histopatológica de todos animais tratados.

### Macaco Rhesus

Num período de 7 anos, 38 macacos rhesus (*Macaca mulatta*) foram inoculados com *M. leprae* derivados de pacientes e macacos mangabey, por via intracutânea e endovenosa. Após 2 a 47 meses, 18% dos animais desenvolveram hanseníase do tipo dimorfa virchoviana e virchoviana. A neurite periférica foi uma ocorrência freqüente nestes animais.

Cinco dos animais inoculados receberam amostras contaminadas com vírus da imunodeficiência de símios (SIY). Três destes animais desenvolveram hanseníase disseminada. Os animais infectados pelo SN parecem ser mais susceptíveis à infecção pelo *M. leprae*.

Os macacos rhesus apresentaram, na sua maioria, a forma mais resistente da hanseníase, sendo que a doença disseminada ocorreu somente em dois animais. Macacos rhesus resistentes ao *M. leprae* eram, em geral, Mitsuda positivos, e os animais Mitsuda negativos apresentaram hanseníase multibacilar.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANERJEE, D.K. et al. Effect of simultaneous administration of interferon-(g) and chemotherapy against *Mycobacterium leprae* in experimental infection in nude mice. *Int. J. Leprosy*, v.58, p.690-96, 1990.
- BINFORD, C.H. Comprehensive program for the inoculation of human leprosy into laboratory animals. *US Public Health Reports*, v.71, p.995-96, 1956.
- CHEHL, S. et al. Transmission of leprosy in nude mice. *Am. j. trop. med. hyg.*, v.34, p. 1161-66, 1985.
- COLSTON, M. J. et al. The nude mouse in studies of leprosy. In: FOGH J., GIOVANELLA, B.C. (eds.). *The nude mouse in experimental and clinical research*. v.2. New York: Academic Press, 1982. p.247-66.

- CONVIT, J. et al. Leprosy in the Armadillos. Clinical and Pathological Aspects. In: The Armadillo as an Experimental Model in Biomedical Research, Workshop held at the Pan American Center for Research and Training in Leprosy and Tropical Diseases. *Proceedings*. Washington: Pan American Health Organization, 1978. p. 41-48.
- DAWSON, P. J. et al. Infection of the congenitally athymic rat with *Mycobacterium leprae*. *Int. J. Leprosy*, v.51, p.336-46, 1983.
- DESIKAN, K.V., SREEVATSA. Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Lepr.*, v.66, p.287-95, 1995,
- FLANAGAN, S.P. "Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Gen. res.*, v.8, p.295-309, 1966.
- GALLETTI, U.G. et al. Ground squirrels (*Citellus tridecemlineatus*) as a n animal model for leprosy research. *Health coop. pap.*, v7, p.47-9,1988.
- HILSON, G.R.F. Observations on the inoculation of *M. leprae* in the foot pad of the white rat. *ha./ Leprosy*, v.33, p.662-66, 1965.
- ITO, K. et al, Effect of Lamprene on experimental leprosy in the nude mouse. *Int. J. Leprosy*, v.54, p.724, 1986.
- JACOBSON, R.R. et al. Rifampin-resistant leprosy. *Lancet*, v.2, p.130405, 1976.
- JOB, C.K. et al. New findings in the mode of entry of *Mycobacterium leprae* in nude mice. *Int. J. Leprosy*, v.58, p. 726-29, 1990.
- JOB, CK et al. Prevalence and significance of positive Mitsuda reaction in the Nine Banded Armadillo (*Dasypus novemcinctus*). *Int. J. Leprosy*, v.55, n.4, p.685-688, 1987.
- KARANTH, S.S. et al. Time-related decrease of substance P and CGRP in central and peripheral projections of sensory neurones in *Mycobacterium leprae* infected nude mice: a model for lepromatous leprosy in man. *J. pathol.*, v.160, p.335-45, 1990.
- KIRCHHEIMER, WE, SANCHEZ, R.M. Quantitative spectrs of leprosy in armadillos. *int. J. Leprosy*, v.44, p.84, 1976.
- McDERMOTT LANCASTER, R.D. et al. Mode of transmission of *M. leprae* infection in nude mice. *Int. j. cap. pallid*, v.71, p.689- 700, 1990.
- MOUDGIL, K.D. et al. Antibody response to phenolic glycolipid-I and *Mycobacterium iv* antigens and its relation to bacterial load in *M. leprae*-infected mice and leprosy patients. *Clin. exp. immunol.*, v.78, p.214-18, 1989.
- OPROMOLLA, D.V.A. et al. Manutenção de tatus em cativeiro tados de inoculação do *Mycobacterium leprae*. *Hans. Int.*, v.5, 11.1, p.28-36, 1980.
- PANTELOURIS, E.M. Absence of thymus in a mouse mutant. *Nature* (London), v.217, p.370-71, 1968.
- PETTIT, J.H.S. et al. Sulphone resistance in leprosy. A n experimental and clinical study. *Lancet*, v.2, p.673-74, 1964.
- PRABHAKARAN, K. et al. Hairless mice, human leprosy and thymus- derived lymphocytes. *Experientia*, v.31, p.784-85, 1975.
- QUESADA-PASCUAL, F et al. A Mexican Armadillo (*Dasypus novemcinctus*) Colony for Leprosy Research. *Int. J. Leprosy*, v.55, n.4, 1).716-718, 1987.
- REES, R.J.W. Enhanced susceptibility of thymectomized and irradiated mice to infection with *Mycobacterium leprae*. *Nature* (London), v.211, p.657-58, 1966.
- REES, R.J.W. et al. Experimental lepromatous leprosy. *Nature* (London), v215, p.599-602, 1967.
- SHEPARD, C.C. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. *J. expert med.*, v.112, p.445-54, 1960,
- SHEPARD, C.C. et al. A method for counting acid-fast bacteria. *Int. J. Leprosy*, v. 36, p.78-82, 1968.
- STORRS, E.E. The Nine Banded Armadillo. A Model for Leprosy and Other Biomedical Research. *Int. J. Leprosy*, v.39, n.3, p.703714,1971.
- XABIER, M.G. *Infection et élimination de Mycobacterium leprae par la souris SLID CB-17 (déficit immunitaire combiné sévère)*. Paris: Comptes Rendus de l'Académie des Sciences 314 (Série III), 1992. p.99-103.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSEN, P et al. Proliferative response to seven affinity purified mycobacterial antigens in eight strains of inbred mice. *tut. J. Leprosy*, v.59, p.58-67, 1991.
- ANDERSON, J.M., BENIRSCHKE, K. The Armadillo, *Dasypus novemcinctus*, in *Experimental Biology. Lab. anisa. care*, v.16, n.3, p.202-216, 1966.
- BANERJEE, D.K. et al. Effect of simultaneous administration of interferon-(g) and chemotherapy against *Mycobacterium leprae* in experimental infection in nude mice. *Int. J Leprosy*, v.58, p.690-96, 1990.

- BASKIN, G.B. et al. The lepromin test in rhesus monkeys. *Int. J. Leprosy*; v.54, p.427-436, 1986.
- BINFORD, C.H. Comprehensive program for the inoculation of human leprosy into laboratory animals. *US Public Health Reports*, v71, p.995-96, 1956.
- BINFORD, C.H. et al. Transmission of *M. leprae* in immunosuppressed. Use of bone marrow shielding in preventing death from irradiation. *Int. J. Leprosy*, v40, p.99-100, 1972.
- BINFORD, C.H. The inoculation of human leprosy in the chimpanzee. Initiation of a long-term project. *Int. J. Leprosy* v.33, p.666-668, 1965.
- CHEHL, S. et al. The growth of *Mycobacterium leprae* in nude mice. *Leprosy Rev.*, v.54, p.283-304, 1983a.
- CHEHL, S. et al. Transmission of leprosy in nude mice. *Am. j. trop. med. hyg.*, v.34, p. 161-66, 1985.
- COLSTON, M. J. et al. The "proportional bactericidal test": a method for assessing bactericidal activity of drugs against *Mycobacterium leprae* in mice. *Leprosy. Rev.*, v. 49, p.7-15, 1978.
- COISTON, M. J. et al. The nude mouse in studies of leprosy. In: FOGH J., GIOVANELLA, B.C. (eds.). *The nude mouse in experimental and clinical research*. v.2. New York: Academic Press, 1982. p.247-66.
- CONVIT, J. et al. Leprosy in the Armadillos. Clinical and Pathological Aspects. In: *The Armadillo as an Experimental Model in Biomedical Research*, Workshop held at the Pan American Center for Research and Training in Leprosy and Tropical Diseases. *Proceedings*. Washington: Pan American Health Organization, 1978. p. 41-48.
- COSTA, H.C. et al. Prevalência de sulfono resistência em pacientes hansenianos do município de Bauru, Estado de São Paulo. *Hansen. Int.*, v.18, 11.1-2, p.5-10, 1993.
- DAWSON, P. J. et al. Infection of the congenitally athymic rat with *Mycobacterium leprae*. *Int. J. Leprosy* v 51, p.336-46, 1983.
- DESIKAN, K.V, SREEVATSA. Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Leprosy*, v66, p.287-95, 1995.
- DONHAM, K.J., LEININGER, J.R. Spontaneous leprosy-like disease in a chimpanzee. *J. infect. dis.*, v.136, p.132-136, 1977.
- DOUGLAS JONES, A.G. et al. Immunity to leprosy, II Genetic control of murine 'F' cell proliferative responses to *Mycobacterium leprae*. *J. immunol.*, v.135, p.2824-29, 1985.
- FIELDSTEEL, A.H. et al. Effect of neonatal thymectomy and antithymocytic serum on susceptibility of rats to *Mycobacterium leprae*. *Proc. soc. exp. biol. med.*, v.138, p.408-13, 1971.
- FIANAGAN, S.P. "Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Gen. res.*, v.8, p.295-309, 1966.
- GALLETI, U.G. et al. Ground squirrels (*Citellus tridecemlineatus*) as a n animal model for leprosy research. *Health coop. pap.*, v.7, p.47-9, 1988.
- GORMUS, B.J. et al. A serologic study of naturally acquired leprosy in chimpanzees *Int. J. Leprosy.* v.58, p.450-457, 1991.
- GORMUS, B.J. et al. Interactions between simian immunodeficiency virus and *Mycobacterium leprae* in experimentally inoculated rhesus monkeys. *J.infec. dis.*, v.160, p.405-413, 1989.
- GORMUS, B.J. et al. Serologic response to *Mycobacterium leprae*-specific phenolic glycolipid-I antigen in sooty mangabey monkeys with experimental leprosy. *Ins. J. Leprosy*, v.56, p.537-545, 1988.
- GUNDERS, A.E. Progressive experimental infection with *Mycobacterium leprae* in a chimpanzee: a preliminary report. *J. trop. med hyg.*, v.61, p.228-30, 1958.
- HASTINGS, R.C. et al. Observations, calculations and speculations on the growth and death of *M. leprae* in vivo. *Int. J. Leprosy*, v. 50, 579-82, 1982.
- NILSON, G.R.F. Observations on the inoculation of *M. leprae* in the foot pad of the white rat. *Ins. J. Leprosy*, v.33, p.662-66, 1965.
- HUBBARD, G.B. et al. Spontaneous leprosy in a chimpanzee (*Pan troglodytes*). *Vet. Path.*, v.28, p.546-548, 1991.
- ITO, K. et al. Effect of Lamprene on experimental leprosy in the nude mouse. *Int. J Leprosy* v.54, p.724, 1986.
- JACOBSON, R.R. et al. Rifampin-resistant leprosy. *Lancet*, v.2, p.1304-05, 1976.
- OPROMOLLA, D.V.A. et al. Manutenção de tatus em cativeiro e resultados de inoculação do *Mycobacterium leprae*. *Hans. Int.*, v.5, n.1, p.28-36, 1980.
- PANTELOURIS, E.M. Absence of thymus in a mouse mutant. *Nature* (London), v. 217, p.370-71, 1968.
- PETTIT, J.H.S. et al. Sulphone resistance in leprosy. A n experimental and clinical study. *Lancet*, v.2, p.673-74, 1964.
- PRABHAKARAN, K. et al. Hairless mice, human leprosy and thymus- derived lymphocytes. *Experientia*, v.31, p.784-85, 1975.

- QUESADA-PASCUAL, F et al. A Mexican Armadillo (*Dasyops novemcinctus*) Colony for Leprosy Research. *Int. J. Leprosy*, v.55, n.4, p.716-718, 1987.
- REES, R.J.W et al. Experimental lepromatous leprosy. *Nature* (London), v.215, p.599-602, 1967.
- REES, R.J.W. Animal models in Leprosy. *Brit. med. bull.*, v.44, p.65064, 1988.
- REES, R.J.W. Enhanced susceptibility of thymectomized and irradiated mice to infection with *Mycobacterium leprae*. *Nature* (London), v.211, p.657-58, 1966.
- SHANNON, E.J. et al. Effects of *Mycobacterium leprae* antigens on the in vitro responsiveness of mononuclear cells from armadillos to concanavalina A. *Leprosy. Rev.*, v.55, p.19-31, 1984.
- SHEPARD, C.C. A kinetic method for the study of activity of drugs against *Mycobacterium leprae* in mice. *Int. J. Leprosy*, v.35, p.429-35, 1967.
- SHEPARD, C.C. A survey of drugs with activity against *M. leprae* in mice. *Int. J. Leprosy* v.39, p.340-48, 1971.
- SHEPARD, C.C. et al. A method for counting acid-fast bacteria. *Int. J. Leprosy*, v. 36, p.78-82, 1968.
- SHEPARI, C.C. et al. Comparison of the immunogenicity of vaccines prepared from viable *Mycobacterium bovis* BCG, heat-killed *Mycobacterium leprae*, and a mixture of the two for normal and *M. leprae*-tolerant mice. *Infec. immun.*, v.40, p.10961103, 1983.
- SHEPARI, C.C. et al. Foot pad enlargement as a measure of induced immunity to *Mycobacterium leprae*. *Int. J Leprosy*, v.48, p.371-81, 1980.
- SHEPARI, C.C. et al. Heat stability of *M. leprae* immunogenicity. *Infec. immun.*, v.22, p.87-93, 1978.
- SHEPARD, C.C. et al. Sensitization or tolerance to *Mycobacterium leprae* antigen by route of injection. *Infec. immun.*, v.38, 1).673-80, 1982.
- SHEPARD, C.C. *Rodents, edentata, and other animal models for leprosy. In: Leprosy: cultivation of the etiologic agent, immunology, animal models.* Pan American Health Organization Scientific Publication 342, Washington, 1977. p.57-62.
- SHEPARD, C.C. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. *J. exper med.*, v.112, p.445-54, 1960.
- STORRS, E.E. et al. Leprosy in the armadillo: new model for biomedical research. *Science*, v.183, p.851-52, 1974.
- STORRS, E.E. The Nine Banded Armadillo. A Model for Leprosy and Other Biomedical Research. *Int. J. Leprosy*, v.39, n.3, p.703714, 1971.
- VADIEE, A.R. et al. The evolution of antibody response in armadillos inoculated with *Mycobacterium leprae*. *Leprosy Rev.*, v.61, p.215-226, 1990.
- VIDAL, M.S.M. et al. *Paracoccidioides brasiliensis*. A mycologic and immunochemical study of a sample isolated from an armadillo (*Dasyops novemcinctus*). *Rev. Inst. Med. Trop. S Paulo*, v.17, n.1, p.43-49, 1995.
- WALSH, G.P et al. Naturally-acquired leprosy in the nine-handed armadillo: a decade of experience 1975-1985. *J leak. biol.*, v.40, p.645-656, 1986.
- WELCH, T.M. et al. Viability of *Mycobacterium leprae*, after multiplication in mice. *Infec. immun.*, v.30, p.325-28, 1980.
- WETZEL, R.M. Taxonomy and Distribution of Armadillos, Dasypodidae. In: MONTGOMERY, G.G. (eds). *Ecology of Armadillos, Sloths and Vermilinguas.* Smithsonian Institution Press, Washington, 1985. p.23-46.
- XABIER, M.G. *Infection et élimination de Mycobacterium leprae par la souris SCID CB-17 (déficit immunitaire combiné sévère).* Paris: Comptes Rendus de l'Académie des Sciences 314 (Série III), 1992. p.99-103.
- YOGI, Y. et al. Susceptibility of severe combined immunodeficient (SCID) mice to *Mycobacterium leprae*: multiplication of *M. leprae* inoculated into both hind feet at na early stage. *Int. J. Leprosy*, v.59, p. 722-23, 1991.