

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Curso de Graduação em Biotecnologia

Trabalho de Conclusão de Curso



Modelos animais experimentais e o uso do hamster sírio dourado
(*Mesocricetus auratus*) na pesquisa científica

Ana Carolina Kurz Pedra

Pelotas, 2021

Ana Carolina Kurz Pedra

**Modelos animais experimentais e o uso do hamster sírio dourado
(*Mesocricetus auratus*) na pesquisa científica**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biotecnologia da Universidade Federal de
Pelotas, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Thais Larré Oliveira

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P371m Pedra, Ana Carolina Kurz

Modelos animais experimentais e o uso do hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) na pesquisa científica / Ana Carolina Kurz Pedra ; Thais Larré Oliveira, orientadora. — Pelotas, 2021.

62 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Biomodelo. 2. Animais. 3. Doenças. 4. Roedores. 5. Insumos. I. Oliveira, Thais Larré, orient. II. Título.

CDD : 599.3234

Ana Carolina Kurz Pedra

**Modelos animais experimentais e o uso do hamster sírio dourado
(*Mesocricetus auratus*) na pesquisa científica**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 09/06/2021

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Thaís Larré Oliveira (Orientadora)

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Sérgio Jorge

Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Dra. Natasha Rodrigues Oliveira

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Alessandra e Quesler, por toda dedicação e esforço para que eu sempre tivesse as melhores oportunidades. Obrigada por sempre estarem por perto, pela confiança e incentivo.

Ao meu irmão, Thiago, pela ajuda em todos os momentos de dúvidas, principalmente, com os números.

À professora e minha orientadora, Thaís Larré Oliveira, pela ajuda na construção desse trabalho e na graduação. Por toda paciência para que nada saísse do controle. Obrigada por todos os ensinamentos.

Ao professor, Odir Antônio Dellagostin, pela oportunidade e orientação durante o estágio.

À minha supervisora de estágio Mara e a Natasha, por sempre compartilharem comigo todos os seus conhecimentos, pela oportunidade de fazer parte e ajudar em seus projetos. Obrigada pela confiança e por todos os momentos, até mesmo os no biotério.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Vacinologia, pelo ótimo ambiente de trabalho e por toda colaboração. Obrigada por todas as conversas na hora do café.

Aos amigos da graduação por compartilharem comigo tantos momentos bons que nunca esquecerei. Em especial, à Ana Cláudia, Alice, Luiza e Tiffany por todo o apoio, incentivo e risadas durante esses anos.

Às amigas de longa data, Bruna, Julia, Luiza e Nathy por sempre se mostrarem presentes mesmo em diferentes fases. Obrigada por permanecerem comigo e por todos os conselhos e momentos compartilhados.

À Universidade Federal de Pelotas e aos professores do curso de Biotecnologia pela oportunidade de ter um ensino de qualidade.

Muito obrigada!

“Você precisa de mentores, mas no final, você realmente só precisa acreditar em si mesmo.”

Diana Ross

Resumo

PEDRA, Ana Carolina Kurz. **Modelos animais experimentais e o uso do hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) na pesquisa científica**. Orientadora: Thaís Larré Oliveira. 2021. 62p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento e Tecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Modelos animais são utilizados há muitos anos gerando grandes avanços no âmbito da pesquisa científica. Os biomodelos são escolhidos de acordo com o objetivo final do estudo e as características específicas do animal, visto que é necessário que o animal reproduza a doença a ser estudada. Além disso, para o uso de biomodelos, questões éticas devem ser consideradas, sendo especialmente norteadas pelo princípio dos 3Rs, descrito por Russell e Burch (1959), o qual prevê a redução, o refinamento e a substituição do uso de modelos animais sempre que possível. Os principais modelos animais utilizados são os roedores. Dentre eles, está o hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) que vem demonstrando seu valor como biomodelo para diferentes doenças há mais de 60 anos, principalmente, bacterianas, virais e parasitárias. Além de ser utilizado para elucidar os mecanismos patológicos de doenças, é também empregado para avaliar a eficácia de vacinas e novas terapias. No entanto, essas investigações são limitadas devido à escassez de insumos específicos para avaliar a resposta imunológica nesse modelo animal. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo realizar uma revisão de literatura acerca da importância de modelos animais para a pesquisa e do uso do hamster sírio como biomodelo para diversas doenças, bem como discutir as ferramentas disponíveis para a avaliação e caracterização da resposta imunológica neste modelo. Foi realizada uma busca por artigos científicos de revisão e originais, por meio de palavras-chaves, nos bancos de dados PubMed e Google Acadêmico. Através da pesquisa realizada, foi possível concluir que os modelos animais são fundamentais para diversos estudos científicos, além de demonstrar a necessidade do desenvolvimento de insumos específicos para hamsters a fim de caracterizar melhor a resposta imunológica, assim, aumentando ainda mais o valor do animal como biomodelo.

Palavras-chave: Biomodelo. Animais. Doenças. Roedores. Insumos.

Abstract

PEDRA, Ana Carolina Kurz. **Experimental animal models and the use of the Golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) in scientific research.** Advisor: Thaís Larré Oliveira. 2021. 62p. Term Paper (Bachelor of Biotechnology) - Center for Development and Technology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Animal models have been used for many years, generating great advances in the field of scientific research. Biomodels are chosen according to the final objective of the study and the specific characteristics of the animal, as it is necessary that the animal reproduce the disease to be studied. Moreover, for the use of biomodels, ethical issues must be considered, being specially based on the principle of 3Rs, described by Russel and Burch (1959), which predict the reduction, refinement and replacement of the use of animal models whenever possible. The main animal models used are rodents. Among them, is the Golden Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) which has demonstrated its value as biomodel for different diseases for over 60 years, mainly bacterial, viral and parasitic infections. In addition to being used to elucidate the pathological mechanisms of diseases, it is also used to evaluate the efficacy of vaccines and new therapies. However, these investigations are limited due the lack of supplies to evaluate the immunological response in this animal model. Therefore, this study aimed to conduct a literature review on the importance of animal models for research and the use of the Golden Syrian hamster as a biomodel for several diseases, as well as discussing the tools available for the evaluation and characterization of the immunological response in this model. A search for review and original scientific articles was conducted, through keywords, in the PubMed and Google Scholar databases. Through the research carried out, it was possible to conclude that animal models are fundamental for several scientific studies, in addition to demonstrating the need for the development of specific reagents for hamsters in order to better characterize the immune response, thus further increasing the animal's value as a biomodel.

Keywords: Biomodel. Animals. Disease. Rodents. Reagents.

Lista de abreviaturas e siglas

AWA	<i>Animal Welfare Act</i> (Lei de bem-estar animal)
BCNT	<i>Boron Neutron Capture Therapy</i> (Terapia de captura de nêutrons de boro)
BPA	Boronofenilalanina
CVB	<i>Center for Veterinary Biologics</i>
DL50	Dose letal 50%
DMBA	Dimetilbenz (a) antraceno
DPI	Dias pós-inoculação
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> (Ensaio de imunoabsorção enzimática)
EVs	<i>Extracellular vesicles</i> (Vesículas extracelulares)
GB-10	Decohidrodecaborato de sódio
IFN	Interferon
Ig	Imunoglobulina
Lig	<i>Leptospiral Immunoglobulin-like</i> (Proteína semelhante à imunoglobulina de <i>Leptospira</i>)
LV	Leishmaniose Visceral
nAb	<i>Neutralizing antibodies</i> (Anticorpos neutralizantes)
OMPs	<i>Outer membrane protein</i> (Proteína de membrana externa)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
RT-qPCR	<i>Quantitative reverse transcription PCR</i>
RBDs	<i>Repetitive Binding Domains</i> (Domínios de ligações repetitivos)
TBN	Tribendimidina

Sumário

1. Introdução	10
2. Objetivos	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. Metodologia	13
4. Revisão Bibliográfica	14
4.1 Modelos animais	14
4.2 Métodos alternativos ao uso de modelos animais	17
4.3 Hamster como modelo animal.....	21
4.3.1 Modelo de estudo de doenças bacterianas	23
4.3.1.1 Leptospirose	23
4.3.1.2 Infecção por <i>Clostridium difficile</i>	27
4.3.2 Modelo de estudo de doenças virais	30
4.3.2.1 COVID-19.....	30
4.3.2.2 Febre Amarela.....	32
4.3.3 Modelo de estudo de doenças parasitárias	34
4.3.3.1 Leishmanioses	34
4.3.3.2 Opistorquíase	35
4.3.4 Modelo de estudo de doenças não transmissíveis	37
4.4 Ferramentas para análise de resposta imunológica em hamsters	41
4.4.1 Resposta humoral	41
4.4.2 Resposta Celular	42
5. Discussão	46
6. Conclusão	49
Referências	50

1. Introdução

A experimentação animal é considerada uma etapa fundamental para o desenvolvimento de novas terapias e vacinas, além de ser crucial para entender os processos patológicos causados por organismos patogênicos (SARKAR; HEISE, 2019). Modelos animais devem ser capazes de reproduzir aspectos fisiológicos e patológicos semelhantes ao que se deseja estudar. A utilização desses modelos apresenta uma grande importância para a ciência visto que há séculos vem contribuindo para diversos avanços (ANDERSEN; WINTER, 2017). Muitas espécies são utilizadas como biomodelos e, para isso, devem seguir critérios de acordo com o objetivo final do estudo (ANDERSEN; WINTER, 2017). Há mais de 60 anos, Russell e Burch (1959) propuseram o princípio dos 3Rs visando a redução, refinamento e substituição para animais na pesquisa (GYSSSENS, 2019). Até hoje esses princípios são considerados a base do uso ético e responsável de animais no âmbito científico (GYSSSENS, 2019).

Visto a necessidade de instaurar o princípio dos 3Rs, métodos alternativos à experimentação animal estão sendo cada vez mais utilizados na pesquisa científica, sendo esses os testes *in vitro* e *in silico* (VICTAL et al., 2014). A utilização desses métodos tem como objetivo a diminuição no número de animais e o refinamento de moléculas a serem avaliadas em testes posteriores *in vivo*, funcionando, portanto, como métodos de avaliação biológica e triagem (VICTAL et al., 2014). No entanto, esses testes necessitam estar bem definidos e validados para que tenham valor translacional, mimetizando o que ocorreria *in vivo* (PRESGRAVE, 2002).

Os animais de laboratório, como os roedores, são considerados os modelos animais mais utilizados. Por serem de pequeno porte, dóceis, prolíferos e facilmente manipuláveis são considerados ótimos modelos de estudo. Dentre os animais mais utilizados, estão os hamsters sírios dourado (*Mesocricetus auratus*). O hamster vem sendo utilizado há mais de 60 anos visto que suas características anatômicas e fisiológicas são únicas assim os tornando modelos de pesquisa desejáveis (VALENTINE et al., 2012). Foi demonstrado seu valor para o estudo da patogênese de infecções bacterianas, virais e parasitárias, bem como para avaliação de eficácia de medicamentos e vacinas para esses patógenos (MIAO et al., 2019). No entanto, a

escassez de reagentes específicos para o estudo da resposta imunológica em hamsters limita o seu valor como biomodelo, visto que aumenta a dificuldade de usar esses animais para a avaliação de vacinas e novas terapias (WAHL-JENSEN et al., 2012). Em comparação com os métodos imunológicos disponíveis para ratos, camundongos e outros animais, os que estão disponíveis para hamsters são limitados. Assim, para que o uso do modelo animal se torne ainda mais vantajoso é necessário o desenvolvimento de novos insumos para uma ampla gama de aplicações (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura visando demonstrar a importância do uso do hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) como modelo animal bem como demais biomodelos roedores para o estudo de diversas doenças.

2.2 Objetivos específicos

- Abordar o conceito e a importância de modelos animais;
- Descrever métodos alternativos ao uso da experimentação animal para a pesquisa;
- Abordar o uso de hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) como modelo animal;
- Analisar os insumos utilizadas e disponíveis para a análise da resposta imunológica em hamsters.

3. Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido através de uma pesquisa em forma de revisão literária para a coleta de referências em artigos originais e de revisão. Assim, para a procura de artigos científicos foram utilizados bancos de dados como o PubMed (NCBI) e o Google Acadêmico. As palavras-chaves buscadas foram: *animal models*, *animal models for studying diseases*, *animal models AND ethical issues*, *syrian golden hamster*, *syrian golden hamster as animal model*, *syrian golden hamster AND bacterial diseases*, *syrian golden hamster AND viral diseases*, *syrian golden hamster AND parasitic diseases*, *syrian golden hamster AND non-communicable diseases*, *syrian golden hamster AND cancer*.

4. Revisão Bibliográfica

4.1 Modelos animais

A experimentação animal pode ser entendida como a prática de realizar intervenções em animais vivos ou recém-abatidos com a finalidade de beneficiar o conhecimento científico (GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016). O uso de modelos animais é responsável pelos grandes avanços que aconteceram na pesquisa ao longo dos anos, visto que a sua utilização acontece desde a antiguidade, com uma crescente aplicação a partir do século XIX (MIZIARA, 2012). Sendo assim, os modelos animais são essenciais para a investigação de função gênica, a compreensão acerca de processos fisiopatológicos de doenças humanas e veterinárias, realização de ensaios terapêuticos com novos fármacos e novas drogas, estudo de biomarcadores e avaliação de novas técnicas com perspectivas de aplicabilidade na espécie humana e no setor veterinário (MEG M. SLEEPER, LAWRENCE T. BISH, 2009; SCHANAIDER, ALBERTO; SILVA, 2008).

Um modelo animal ou biomodelo, pode ser definido como um organismo vivo no qual é possível investigar um processo patológico de forma mais semelhante possível ao que ocorre na espécie-alvo,, assim como avaliar técnicas com aplicabilidade em diferentes áreas (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005). Além disso, o processo e os resultados devem poder ser reproduzidos por outros pesquisadores (BARBOSA DE OLIVEIRA, 2013). Esses processos podem ser espontâneos - utilizam variantes genéticas de doenças que ocorrem naturalmente nos animais - ou induzido - situações em que a condição/doença a ser investigada é induzida experimentalmente (MONTEIRO et al., 2009).

A realização de estudos com a utilização de modelos animais ainda é um desafio, o pesquisador deve ter em mente que trabalhar com biomodelos demanda um grande conhecimento e planejamento, principalmente para a escolha certa do modelo animal a ser utilizado (MIZIARA, 2012). Os modelos animais devem ser escolhidos de acordo com o objetivo final do estudo e atender uma série de fatores importantes. Dentre esses, podemos destacar a permissividade à indução de processos patológicos, ciclo reprodutivo curto, facilidade de manipulação, segurança, custo, prole numerosa (SARKAR; HEISE, 2019), infraestrutura e, principalmente,

possuir semelhança à patologia à ser estudada. (SHARIF; IRSHAD, 2012). Os biomodelos mais utilizados em pesquisas são os animais de laboratório, em que correspondem mais especificamente aos roedores, por apresentarem as características citadas anteriormente, além de serem animais de pequeno porte, dóceis e facilmente adaptáveis. Dentre estes, podemos destacar os: camundongos (*Mus musculus*), ratos (*Rattus norvegicus*), cobaias (*Cavia porcellus*) e hamsters (*Mesocricetus auratus*).

O camundongo (*Mus musculus*) foi a base para as primeiras linhagens consanguíneas e, ao longo dos anos, tornou-se o modelo animal mais utilizado na pesquisa. O uso é justificado por ser pequeno, possuir fácil domesticação e manipulação, ciclo reprodutivo curto, prolífero e pela possibilidade de se fazer cruzamentos controlados, além de possuir uma maior proximidade com humanos (SANTOS, 2002). Possui uma adaptação a diversas condições ambientais, podendo viver bem sozinho quanto em grandes colônias. Assim, é um modelo que representa muitas condições patológicas, sendo utilizado para inúmeros estudos de diversas doenças, principalmente doenças genéticas (CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007). Camundongos com mutações são utilizados para o estudo de doenças como alcaptonúria, fenilcetonúria, síndrome de Marfan, obesidade, síndrome de Down, dentre outras (FONSECA SCHAMBER REIS, 2006). Através do uso deste modelo é possível estudar a patologia de uma síndrome ao longo do tempo, bem como a função de genes que têm papéis determinantes na gravidade de um fenótipo e que constituem novos alvos para tratamentos de doenças genéticas (KO; LUCA; OLIVEIRA, 2017).

O rato sempre possuiu uma grande proximidade com os humanos, acompanhando a espécie humana e compartilhando desde o habitat e sua comida, até a sua evolução e sua migração. Acredita-se que o *Rattus norvegicus* ou conhecido popularmente como “rato branco de laboratório” foi introduzido pela primeira vez como animal de laboratório no século XIX e foi o primeiro mamífero a ser utilizado para fins científicos. (OLIVEIRA; ANA FAUSTINO, 2019). É utilizado como animal modelo até hoje por possuir vantagens como a facilidade no manejo e manutenção, tamanho pequeno, baixo custo, capacidade de reprodução. São animais sociáveis e dóceis que vivem melhor em grupos (CESARINO, J. L., GONTIJO J. A. R., ZAPPAROLI A.R, 2011). Entretanto, são considerados resistentes a algumas doenças infecciosas

abrindo espaço para a busca por outros animais modelos para estudos (SOUSA et al., 2013).

A cobaia ou o famoso “porquinho da índia” também é utilizado como modelo animal para estudos. A *Cavia porcellus* é utilizada desde a década passada para estudos de infecções bacterianas, sendo este um modelo muito bem caracterizado para estudos sobre tuberculose devido a sua suscetibilidade à infecção e sintomas semelhantes à humanos (PADILLA-CARLIN; MCMURRAY; HICKEY, 2008). Também é utilizado para experimentações na área de nutrição, farmacologia, alergia e radiologia (COUTO, 2002). O pequeno porte, docilidade e por conseguirem reproduzir aspectos patológicos são características que o tornam um bom modelo para estudos (PENA et al., 2018), entretanto, tornam-se animais com custo mais elevado quando comparado a ratos e camundongos devido a necessidade de suplementação de vitamina C na alimentação visto que, assim como humanos, esses animais não conseguem sintetizar vitamina C naturalmente. Além disso, há uma escassez de reagentes imunológicos disponíveis para esta espécie (AGGARWAL et al., 2012; PENA et al., 2018).

O uso do hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) como modelo animal foi crescente nas últimas décadas visto que é suscetível a uma ampla gama de patógenos, diferente de outras espécies. No entanto, ainda é considerado relativamente novo como animal de laboratório (SANTOS, 2015; WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Por ser um animal menor quando comparado ao rato, sua manipulação é mais fácil, ao mesmo tempo em que isso não compromete a visualização de certos sistemas biológicos.(VALENTINE et al., 2012). Além de ser possível o alojamento em gaiolas e em grupos, assim diminuindo custos e manutenção (SEABRA, 2019; WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Possui características anatômicas que fazem com que se torne um modelo animal adequado para pesquisa (VALENTINE et al., 2012). Por ser suscetível a uma ampla gama de doenças, o hamster apresenta-se como modelo para estudos de enfermidades causadas por bactérias, vírus e outros patógenos. Também são utilizados para estudos de avaliação de vacinas e drogas terapêuticas. Embora, o número de trabalhos envolvendo hamster como modelo de pesquisa seja crescente, o uso deste ainda é limitado pela escassez de reagentes específicos para avaliação de resposta imunológica (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

Com os avanços da utilização da experimentação animal em trabalhos de pesquisa e ensino, o debate acerca das questões éticas e sobre métodos alternativos se tornou mais presente na sociedade (CAZARIN; CORRÊA; ZAMBRONE, 2004). Para o trabalho com uso de animais modelos é necessário que se tenha a consciência das questões éticas relacionadas ao uso, como o respeito pela vida e ao bem-estar dos animais preocupando-se em conduzir pesquisas sem causar dor e sofrimento (RIVERA, 2002). Com o propósito de implicar nas questões éticas acerca da utilização de animais modelos foi descrito o princípio dos 3Rs, por Willian Russel e Burch em 1959. É utilizado como base para as questões éticas em todo o mundo. Nele, cada R representa um princípio para o uso ético de animais em experimentos baseado na tradução em inglês de cada um: Redução (*Reduction*), Refinamento (*Refinement*) e Substituição (*Replacement*) (ANDERSEN; WINTER, 2017).

O princípio de redução é baseado na aplicação de métodos que permitam a redução do número de animais utilizados em um protocolo. Isso pode ser alcançado por meio do planejamento detalhado dos experimentos, garantindo que os resultados tenham significância estatística. Refinamento é baseado em técnicas para que seja evitado o sofrimento do animal melhorando o bem-estar do mesmo, como com o uso de drogas anestésicas se necessário, e uso de técnicas não invasivas. Por fim, a substituição prevê a utilização de métodos alternativos que possam substituir o uso de animais na pesquisa, como por exemplo o uso de plantas, microrganismos, cultura de células, embriões ou larvas, bem como abordagens *in vitro*, *in silico* e *ex vivo* (ANDERSEN; WINTER, 2017; SOUZA; FILHO; GURGEL, 2011).

4.2 Métodos alternativos ao uso de modelos animais

O uso de métodos alternativos é definido como os procedimentos que visam substituir o uso de animais em experimentos, reduzir o número de animais necessários, ou refinar a metodologia de forma a diminuir a dor ou o desconforto sofrido pelos animais. É necessário que para a utilização destes, o método esteja bem definido e validado, assim como também deve indicar as condições de eficácia e controle de uma substância ou produto o mais precisamente possível (PRESGRAVE, 2002). Os métodos alternativos possuem vantagens que vão desde o princípio de

substituição da utilização de animais modelos, como também o custo benefício, não se fazendo mais necessário a infraestrutura de biotérios (VICTAL et al., 2014).

Testes *in vitro* e *in silico* vem ganhando mais espaço e sendo utilizados na pesquisa como alternativa ao uso de animais, ou com o objetivo de refinar o número de compostos avaliados em animais modelo, selecionando aqueles mais promissores para a finalidade da pesquisa. Entretanto, esses métodos não substituem totalmente o uso de animais e servem como um pré-teste para complementar informações e reduzir a necessidade de grandes números de animais utilizados (VICTAL et al., 2014).

Métodos *in vitro* são aqueles que são realizados fora de um organismo vivo e se referem aos feitos em laboratórios em condições controladas (REIS; DALMOLIN; DALLEGRAVE, 2017). Normalmente envolvem células, tecidos ou órgãos isolados buscando retratar o máximo possível a similaridade entre os processos fisiológicos (MONTEIRO et al., 2009). Por exemplo, podemos utilizar estes para analisar a toxicidade celular de uma droga ou substância recém descoberta. Também podemos citar alguns testes que vêm sendo utilizados na avaliação da ação de quimioterápicos sobre a viabilidade de células cancerígenas, nos quais células são cultivadas e posteriormente, substâncias com possível atividade anti-tumoral são adicionadas ao meio e, em seguida, são avaliados parâmetros de viabilidade celular, como danos em suas membranas ou junções celulares através de ensaios como o LIVE/DEAD (JEAN-QUARTIER et al., 2018; MORALES, 2008). Os métodos *in vitro* também podem ser utilizados para estudar os vários aspectos celulares como o microambiente tumoral usando tipos específicos de células, matrizes extracelulares e fatores solúveis, incluindo modelos mais modernos, como sistemas de culturas 3D que representam com maior precisão o microambiente tumoral. Para isso é utilizado, frequentemente, esferoides celulares em ensaios de inversão e migração e de quimioresistência. (JEAN-QUARTIER et al., 2018). Estudos envolvendo o vírus da ZIKA (ZIKV) demonstram o desenvolvimento de um método de triagem para antivirais, em que células progenitoras neurais humanas (NPCs) infectadas foram tratadas, com mais de 1.000 potenciais medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA. Além disso, a cultura de células primárias humanas, como as células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) podem ser utilizadas para estudar aspectos inatos da infecção, bem como a resposta adaptativa à infecção viral.

Entretanto as PBMCs possuem uma limitação, a alta variabilidade genética nos indivíduos (CHESNUT et al., 2019). Também é possível o desenvolvimento de sistema de produção de embriões *in vitro* para ruminantes, sendo possível a investigação da resposta do embrião ao seu ambiente (VAN SOOM et al., 2010).

Apesar dos testes *in vitro* serem uma boa alternativa para atender ao princípio dos 3Rs, possuem custo reduzido, serem menos complexos, mais práticos e muitas vezes apresentarem riscos mais baixos que testes *in vivo*, muitos destes testes ainda não demonstram totalmente os mecanismos e interações fisiológicas encontradas *in vivo*, tornando-os ainda indispensáveis em determinados estudos (HEIDER ALVARENGA DE JESUS, 2013).

Os testes *in silico* são definidos como o conjunto de abordagens computacionais e técnicas de modelagem para análise biológica (JEAN-QUARTIER et al., 2018). A biologia computacional e a bioinformática podem ser utilizadas para estudos de variáveis e hipóteses para uma redução de custos, além de fornecer informações mais eficientes para que ocorra uma redução no número de animais utilizados nos testes subsequentes (MORALES, 2008). Os métodos *in silico* vem ganhando cada vez mais espaço pois podem desempenhar papel importante projetando e rastreando grandes bibliotecas de biomoléculas, bem como modelar interações patógeno-hospedeiro e estudar mecanismos potenciais de infecção e dinâmica de transmissão de doenças (PENA et al., 2018). Através de modelos matemáticos e da bioinformática estrutural aliada ao uso de algoritmos, é possível fazer a predição da estrutura 3D de proteínas, das suas características físico-químicas e imunológicas, com aplicação em áreas como vacinologia e terapêutica (MORALES, 2008). Além disso, a bioinformática estrutural já vem sendo utilizada desde o sequenciamento dos genomas durante o mapeamento dos *loci*, montagem dos fragmentos e anotações dos genomas sequenciados.

Métodos *in silico* podem ser usados para triagem de ligantes de moléculas e avaliação de perfil de afinidade virtual, em uma abordagem denominada *docking molecular*, capaz de fornecer informações mais detalhadas da identificação de moléculas ativas para o alvo de interesse quando comparado com a seleção aleatória ou outros métodos, possibilitando obter uma gama de informações que permitem a priorização de alvos e compostos para validação *in vitro* e *in vivo*. O modelo de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR) foi originalmente desenvolvido com

o objetivo de relacionar a estrutura química de uma molécula com sua atividade biológica. Este conceito foi estendido para construção de modelos estatísticos usando compostos ativos conhecidos para prever as propriedades biológicas de moléculas com apenas informações sobre sua composição química (SACAN; EKINS; KORTAGERE, 2012).

Abordagens *in silico* estão sendo utilizadas também em estudos na área de oncologia, integrando e anotando informações sobre os vários tipos da doença, além de desenvolver ferramentas integrativas para apoiar as tarefas de análise e produzir percepções biológicas (JEAN-QUARTIER et al., 2018). É possível fazer simulação biológica de modelos de câncer através da biologia computacional que fornece os recursos e ferramentas necessárias, assim foram simulados modelos de rede da sinalização do câncer que medem a expressão e atividade de determinada proteína que está em uso em experimentos de validação e também para testes de eficácia de drogas terapêuticas (CHRISTOPHER et al., 2004). Além disso, o *Human Protein Atlas* (<https://www.proteinatlas.org/>) fornece dados sobre a distribuição e a expressão de produtos genéticos em tecidos normais e tumorais com base em imagens imunohistoquímicas; o banco de dados fornece identificação de proteínas tumorais para serem analisadas como potenciais biomarcadores (JEAN-QUARTIER et al., 2018).

Modelos *in silico* também são utilizados para estudos acerca de mecanismos fisiológicos, como aqueles envolvidos em complicações cardio-respiratórias e na área de farmacocinética (COLQUITT; COLQUHOUN; THIELE, 2011). Apesar de apresentarem vantagens como a rapidez e baixo custo na sua execução, os métodos *in silico* reduzem o número de animais utilizados em estudos mas não substituem os testes *in vivo* (KARLLA GONÇALVES DE MACEDO, CLEBER CAMILO DE MELO FILHO, 2013).

Assim, percebemos a importância de agrupar abordagens de estudos *in vivo*, *in vitro* e *in silico* para o desenvolvimento de pesquisas com aplicação em saúde humana, observando o princípio dos 3Rs. A utilização de métodos *in vitro* e *in silico* em conjunto gera uma gama de informações e dados preliminares preenchendo lacunas entre a pesquisa pré-clínica e clínica assim reduzindo os animais utilizados na pesquisa, visto que mesmo com os testes alternativos ainda são necessários os

testes *in vivo* pois alguns fatores do próprio organismo podem interferir nos resultados (CHESNUT et al., 2019; MORALES, 2008).

4.3 Hamster como modelo animal

Taxonomicamente, o hamster sírio pertence a espécie *Mesocricetus auratus*. (SANTOS, 2015). O animal começou a ser utilizado na pesquisa na Síria, em 1930, onde pesquisadores da Universidade de Jerusalém buscavam uma nova espécie de hamster para tornar-se modelo adequado de pesquisa. Mais tarde, os animais encontrados e que sobreviveram foram para laboratórios na Europa e Estados Unidos para a formação de colônias. Devido a sua localização de origem, a espécie *Mesocricetus auratus* ficou popularmente denominada de “hamster sírio”, e, posteriormente, devido a sua cor foi adicionada a denominação “dourado” (SANTOS, 2015). Apesar desses animais serem considerados “o hamster de laboratório”, outras espécies também são utilizadas para a pesquisa.

Antes do uso do hamster sírio, o hamster chinês (*Cricetulus griséus*) teve um papel muito importante para a pesquisa, principalmente aplicada ao estudo da leishmaniose e de pneumococos (FEENEY, 2012). O animal é originado do norte da Ásia, com uma extensão que percorre desde o sul da Sibéria, Mongólia e nordeste da China até as regiões do norte da Coreia do Norte (FEENEY, 2012). Hoje, o uso desses animais em pesquisas e biotecnologia, ocorre através da utilização de linhagens celulares derivadas de suas células ovarianas, as quais são utilizadas para a síntese de diversas proteínas recombinantes com diversas finalidades, sendo uma delas a terapêutica para uso clínico no tratamento de diversas doenças (MIEDEL; HANKENSON, 2015). O hamster armênio (*Cricetulus migratorius*) também é utilizado para a pesquisa. Esses modelos foram introduzidos pela primeira vez como animais de laboratório na década de 1960 por causa de sua suscetibilidade a agentes mutagênicos e carcinogênicos, sendo utilizados para o estudo de doenças prionicas (MIEDEL; HANKENSON, 2015).

Diferente dos outros roedores, o hamster sírio possui o corpo compacto e a cauda muito curta. Possui como característica mais marcante, a presença de bolsas laterais ou bolsas guturais que são divertículos ou invaginações saculares

distensíveis, localizadas no interior da boca que se estendem sob a pele, as quais apresentam como principal função sua utilização para o armazenamento de comida (SANTOS, 2015; SEABRA, 2019). A região dessas bolsas laterais é conhecida como um “sítio imunologicamente privilegiado naturalmente”, o que significa a ausência ou deficiência de uma via anatômica aferente adequada para drenar material antigênico para linfonodos regionais, cuja presença permitiria o reconhecimento do antígeno e iniciaria a resposta imune (HOCHMAN et al., 2004). Essas bolsas imunoprivilegiadas servem como local de estudo, principalmente por conta de o epitélio da bolsa possuir semelhança histológica com a pele humana. Pode ser objeto para a realização de estudos de angiogênese com tecidos cutâneos, bem como para estudos bioquímicos tanto de reações inflamatórias quanto alérgicas. O epitélio pode ser utilizado para enxertar tecidos de diversos órgãos, com foco em enxertos heterólogos para cicatrizes hipertróficas, neoplasias e outras doenças cutâneas. Além disso, como o subepitélio das bolsas são, imunologicamente, diferentes um do outro, é possível que enxertos homo ou heterólogo em uma bolsa, não tenha influência na bolsa do outro lado (HOCHMAN et al., 2004; YAPIJAKIS et al., 2019).

Nos últimos 50 anos, o hamster sírio vem sendo utilizado como modelo para estudar doenças, inicialmente sendo utilizado para estudos de leishmaniose (DAS; MOREIRA, 2012). Sua ampla utilização deve-se ao seu tamanho intermediário, suas características anatômicas, comportamento sociável podendo ser alojado em pequenas gaiolas, assim diminuindo gastos com manutenção (SEABRA, 2019). Além disso, é capaz de desenvolver uma resposta imune contra diversos patógenos, se tornando vantajoso para o estudo da patogênese de infecções, incluindo bacterianas, virais e parasitárias, permitindo também a avaliação de eficácia e das interações medicamentosas e vacinas (MIAO et al., 2019; SEABRA, 2019). Segundo estudos, as citocinas humanas, incluindo o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e interleucina-12 (IL-12), são totalmente funcionais em modelos de hamster, mas não em modelos de camundongos (MIAO et al., 2019).

Devido à essa similaridade imunológica com humanos, os hamsters têm sido utilizados em uma ampla gama de estudos, desde aqueles que examinam diabetes, aterosclerose, plasticidade neural, até câncer (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Além disso, por serem naturalmente suscetíveis a uma ampla gama de patógenos (WAHL-JENSEN et al., 2012), tem sido usado como hospedeiro

experimental para o isolamento de uma série de patógenos humanos e também veterinários, e para estudos aplicados à leishmaniose e à infecções bacterianas, fúngicas, virais, entre outras (MIEDEL; HANKENSON, 2015). Esses animais são reconhecidos como um modelo valioso para o estudo de doenças virais humanas emergentes e agudas causadas por vírus de RNA altamente patogênicos, visto que alguns vírus humanos específicos também podem infectar, replicar e causar alterações patológicas semelhantes em hamsters sírios (MIAO et al., 2019).

Apesar do hamster já ser utilizado há anos, só recentemente foi realizado o primeiro sequenciamento e anotação de seu genoma pelo BROAD Institute (NCBI BioProject 77669) (TCHITCHEK et al., 2014; WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). A disponibilidade destes dados leva à expectativa de que assim talvez se tenham mais informações para a produção de reagentes específicos para hamster, considerando que a escassez de insumos para se avaliar a resposta imune neste modelo é uma das desvantagens para o seu uso como modelo de estudo para algumas doenças (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

4.3.1 Modelo de estudo de doenças bacterianas

4.3.1.1 Leptospirose

O hamster sírio dourado (*M. auratus*) é considerado um modelo animal bem caracterizado para estudos de leptospirose, devido a sua alta suscetibilidade a diversas cepas patogênicas e a sua alta reprodutibilidade (HAAKE, 2006). Estudos ao longo do século, demonstram que o hamster é capaz de reproduzir a forma grave da doença humana quando infectado por *Leptospira* spp., causando degeneração das junções de hepatócitos, levando à icterícia. Os animais apresentam também outras alterações como a leucocitose, hemorragia, alteração endotelial, bem como glomerulopatia trombótica e nefrite intersticial (GOMES-SOLECKI; SANTECCHIA; WERTS, 2017). Assim, o modelo animal é utilizado em estudos sobre os mecanismos de virulência da bactéria e da patogênese da doença, a avaliação da resposta imune do hospedeiro à leptospirose bem como a eficácia de potenciais antígenos vacinais ou com aplicação ao diagnóstico, além de seu uso para manutenção da virulência

de cepas ou isolados de *Leptospira* e testes de potência de bacterinas comerciais (STOKES et al., 2013; VERNEL-PAUILLAC; GOARANT, 2010).

Apesar da *Leptospira* se disseminar para muitos órgãos, os tecidos alvos mais atingidos são os do fígado e dos rins; é observado que o fígado é fortemente infectado durante o estágio inicial da disseminação, enquanto a infecção persistente ocorre nos rins dos animais que sobreviveram (HAAKE, 2006). Estudos demonstram que os animais infectados desenvolvem a expressão aumentada de citocinas pró-inflamatórias pelas células sanguíneas periféricas, como IL-1 α , IL-10, TNF- α (MIAO et al., 2019). A intensidade da resposta pró-inflamatória varia de acordo com a cepa utilizada, assim como com a carga bacteriana nos órgãos (HAAKE, 2006).

Devido a sua suscetibilidade, o modelo animal animal é utilizado para caracterização da virulência de diferentes cepas de *Leptospira*, realizada normalmente em experimentos de dose letal 50% (DL50) (SILVA et al., 2008). Esses ensaios são importantes para estudar a dinâmica da infecção e a epidemiologia da doença, além da cepa servir futuramente para utilização em experimentos desafio, como os que buscam avaliar a resposta protetora de vacinas convencionais ou recombinantes contra a leptospirose (DINIZ et al., 2011; SILVA et al., 2008). Diniz et. al reproduziram a leptospirose experimental para a realização da padronização da DL50 de uma cepa do sorogrupo Ballum de *L. borgpetersenii*, observando características clínicas da doença e lesões teciduais nos animais. Além disso, foi observado que a cepa analisada, 4E, induziu letalidade no modelo de hamster com inóculo menor que 10 *Leptospiras*, e o exame histopatológico dos animais mostrou lesões típicas encontradas na leptospirose grave (DINIZ et al., 2011). Em outro estudo, hamsters foram utilizados para avaliar a virulência de 12 diferentes cepas de *Leptospira*, do sorogrupo Sejroe, obtidas de ruminantes no Brasil. Observou-se que cepas de *Leptospira* do sorogrupo Sejroe diferentes de Hardjo, principalmente cepas do sorovar Guaricura, podem ser infectantes e virulentas para o modelo de hamster, determinando infecções crônicas e letais, aumentando assim o conhecimento sobre a fisiopatologia da infecção por cepas do sorogrupo Sejroe em rebanhos (BARBOSA; MARTINS; LILENBAUM, 2019).

Os hamsters sírios dourado são utilizados para testes de potência de vacinas comerciais veterinárias contendo cepas de *Leptospira* inativadas, mais conhecidas

como bacterinas. Os testes são realizados através do desafio desses animais com cepas virulentas da bactéria (WALKER; SRINIVAS, 2013). Isso ainda acontece em bacterinas para cães, por conta das autoridades regulatórias que exigem que cada lote produzido da vacina seja testado, garantindo que a mesma realmente tenha capacidade de produzir uma potente imunidade protetora (STOKES et al., 2013). Assim, o próprio fabricante deve conduzir os testes de potência em cada lote comercializado (SRINIVAS; WALKER; RIPPKE, 2013). Os requisitos para a realização dos testes de potência vão variar de acordo com as autoridades regulatórias. Segundo os procedimentos descritos nos Métodos de Ensaio Suplementar (SAMs) fornecidos pelo *Center for Veterinary Biologics* (CVB), são necessários cerca de 40 animais para cada sorogrupo contido na formulação vacinal (WALKER et al., 2018). Entretanto, o CVB desenvolveu um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) *in vitro* para vacinas contendo os sorovares Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae e Pomona, assim diminuindo o número de hamsters utilizados nos ensaios de potência (STOKES et al., 2013; WALKER; SRINIVAS, 2013). Ainda assim, atualmente na Europa, testes de potência utilizando hamsters são realizados para aprovação de vacinas comerciais caninas pela Farmacopeia Europeia, enquanto vacinas bovinas são testadas através de métodos sorológicos (BRUCKNER, 2013)

Também como demonstrado, o hamster como modelo animal pode ser utilizado para avaliar a capacidade protetora de possíveis vacinas contra a leptospirose. Diversos alvos vacinais vem sendo estudados para compor uma vacina contra a leptospirose, entre eles, podemos citar as proteínas de membrana externa expostas à superfície (OMPs), que possuem importante papel na virulência bacteriana e podem ser reconhecidas pela resposta imune do hospedeiro no início da infecção, além de possuírem potencial para induzir proteção cruzada contra diferentes sorovares de *Leptospira* patogênicas (DELLAGOSTIN et al., 2017; DUAN et al., 2020; EVANGELISTA et al., 2017; GRASSMANN et al., 2017). Dentre essas OMPs, estão as proteínas semelhantes à imunoglobulinas de *Leptospira* (Lig), as quais são conhecidas por serem encontradas em espécies patogênicas, localizarem-se expostas à superfície e serem altamente conservadas (FELIX et al., 2020). Além disso, podem desempenhar um papel na patogênese da leptospirose, sendo essas expressas durante a infecção no hospedeiro estando correlacionadas com a virulência da bactéria (MATSUNAGA et al., 2005). Três proteínas Ligs foram descritas,

conhecidas como LigA, LigB e LigC, sendo LigA e LigB as mais utilizadas como potenciais alvos vacinais (DELLAGOSTIN, ODIR et al., 2011)

Vacinas usando proteínas recombinantes LigA ou LigB têm demonstrado taxas de proteção variáveis, dependendo da formulação vacinal e dos métodos de desafio (FELIX et al., 2020). Silva et al. (2008) demonstraram primeiras evidências acerca do potencial imunoprotetor da proteína LigA em forma recombinante, demonstrando que a região carboxi-terminal exclusiva da proteína LigA continha um domínio imunoprotetor induzindo proteção contra infecção com cepa altamente virulenta em hamster (SILVA, 2008). Foi demonstrado que é necessário uma construção de pelo menos três grandes domínios de LigA para a imunoproteção, sugerindo também que estes podem ser necessários para o dobramento conformacional adequado da proteína. Apesar da proteína LigA ter um papel imunoprotetor e transformar uma infecção letal em uma infecção renal subletal, ainda não foi demonstrado se a proteína é capaz de induzir imunidade esterilizante. São necessários outros estudos para identificar melhor os requisitos estruturais da proteína e os mecanismos de imunoproteção mediada por LigA (COUTINHO et al., 2011). Além disso, a LigA não está presente em todas as espécies patogênicas, potencialmente limitando seu papel em uma vacina universal contra a leptospirose (FELIX et al., 2020).

Conrad et al. (2017) produziram uma vacina de subunidade utilizando fragmentos de LigB com hidróxido de alumínio, a qual demonstrou proteção contra desafio letal em hamsters e induziu imunidade esterilizante, visto que os animais sobreviventes imunizados tiveram cultura renal negativa para a bactéria e não foi encontrado DNA leptospiral nos rins dos animais. O estudo demonstrou que, assim como resultados encontrados em outros trabalhos, a produção de anticorpos não está correlacionada com uma proteção induzida por vacinas recombinantes contra leptospirose (CONRAD et al., 2017).

Outras estratégias também podem ser utilizadas para o desenvolvimento de uma vacina contra a leptospirose, como vacinas de DNA. Uma vacina de DNA contendo uma porção codificadora para LigBrep foi capaz de proteger contra desafio em hamsters, tendo efeito profilático contra infecção letal. Entretanto ainda existe uma necessidade de avaliação do protocolo de vacinação para aumentar a eficácia dessas vacinas (FORSTER et al., 2013).

Apesar de diversos alvos vacinais terem sido avaliados ainda não foi encontrada uma vacina universal, visto que o sucesso no desenvolvimento de uma vacina está em alcançar a imunidade esterilizante e conferir proteção heteróloga (RAJA et al., 2018). Em uma revisão Felix et al. (2020) citam que para a descoberta de uma nova vacina contra leptospirose ainda é preciso superar obstáculos, como a descoberta de correlatos de imunidade que provavelmente permitirão a validação e otimização de novos antígenos. A maioria dos estudos encontrados caracterizam apenas a resposta humoral mas pouco uma resposta celular diante da falta de insumos disponíveis para hamsters (FELIX et al., 2020). Até o momento, estudos envolvendo a análise da resposta celular dessas vacinas em hamsters se restringem a nível de transcrição de citocinas sendo feitos, principalmente, pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, justamente pela falta de insumos e kits para ensaios como o ELISA. Surge assim a necessidade de desenvolver novas ferramentas e insumos para hamsters a fim de caracterizar melhor a resposta mediada por células induzida por essas vacinas, visto que a medição e avaliação dos perfis de citocinas podem fornecer um método útil para o estudo preciso dos mecanismos de imunidade anti-*Leptospira*, indicações de fatores de prognóstico e avaliação prospectiva da eficácia de vacinas contra leptospirose (VERNEL-PAUILLAC; MERIEN, 2006).

4.3.1.2 Infecção por *Clostridium difficile*

Modelos de hamsters, em particular hamsters sírios dourado, também têm sido amplamente empregados para o estudo da infecção causada por *Clostridium difficile* visto que os animais compartilham algumas das características reconhecidas de *C. difficile* isolados de humanos, especialmente em relação à suscetibilidade do animal à infecção após a administração de antibióticos que interrompem a flora intestinal normal (BEST; FREEMAN; WILCOX, 2012). Após o pré-tratamento com clindamicina e desafio com cepas toxigênicas de *C. difficile*, os hamsters desenvolvem uma colite pseudomembranosa, bem como outros sintomas de doença aguda, incluindo pêlo eriçado, curvatura e letargia, levando à morte (HUTTON et al., 2014).

O modelo do hamster tem sido fundamental na compreensão da patogênese do *C. difficile*. Este modelo foi usado para estudar vários aspectos da doença,

incluindo colonização, transmissão, fatores de virulência, desenvolvimento de vacinas e para o teste de uma variedade de drogas terapêuticas (BEST; FREEMAN; WILCOX, 2012; GOULDING et al., 2009; LYERLY et al., 1985). Também foi usado para avaliar a virulência de vários isolados animais e humanos de *C. difficile* (HUTTON et al., 2014). Hamsters foram utilizados para estudos envolvendo o papel das toxinas A e B produzidas por *C. difficile*. Diferentes estudos demonstraram resultados variados acerca do papel dessas toxinas; estudos anteriores mostraram que a toxina A purificada, mas não a B, replicou os sintomas da infecção por *C. difficile* (JR; PETRI, 2013; LYERLY et al., 1985), entretanto, outros estudos demonstraram que a toxina B é essencial para a virulência enquanto a toxina A é dispensável (JR; PETRI, 2013; LYRAS et al., 2009). No entanto, um estudo de Kuehne et al. (2010) reafirma a importância das toxinas A e B como mediadores importantes de citotoxicidade *in vitro* e virulência *in vivo* (BEST; FREEMAN; WILCOX, 2012; KUEHNE et al., 2010). Sendo assim, o papel acerca das toxinas de *C. difficile* permanece em discussão visto que também pode variar de acordo com a espécie hospedeira (BEST; FREEMAN; WILCOX, 2012).

Visto que as terapias utilizadas contra a infecção de *C. difficile* muitas vezes falham em prevenir a recorrência da doença após o tratamento, novas terapias e antibióticos vem sendo pesquisados. O modelo de hamster sírio dourado para infecção por *C. difficile* é utilizado para avaliar a eficácia dessas novas terapias (TRZASKO et al., 2012). SMT19969 é um novo antibiótico em desenvolvimento clínico para a infecção por *C. difficile*. Sattar et al. (2014) demonstraram a eficácia do medicamento em diferentes cepas de *C. difficile*, relatando proteção significativa contra mortalidade durante a infecção aguda e em períodos de observação pós-dosagem. Além disso, foi observada uma melhora no tempo de recuperação da microbiota dos animais, o que é benéfico visto que o maior problema com os medicamentos já utilizados é a destruição contínua da microbiota gastrointestinal que já está danificada, deixando assim o paciente suscetível à reinfecção. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar a capacidade do SMT19969 de atuar na inibição da esporulação da bactéria (HEIDEBRECHT et al., 2019; SATTAR et al., 2014).

A quibdelomicina é outro novo antibiótico que foi avaliado *in vivo* em modelos de hamsters, demonstrando proteção contra uma infecção letal e redução nas contagens de *C. difficile* (MIESEL et al., 2014). Outro estudo demonstrou que o

DS-2969b, um inibidor de GyrB, foi eficaz, quando comparado com os medicamentos atualmente disponíveis e emergentes, contra diferentes cepas de *C. difficile* (MATHUR et al., 2018). Anticorpos também são estudados devido a sua capacidade de neutralizar completamente as toxinas. Resultados já demonstraram a capacidade dos anticorpos como abordagem terapêutica para proteção dos animais infectados (BABCOCK et al., 2006; DAVIES et al., 2013; MAROZSAN et al., 2012; QIU et al., 2016).

O modelo de hamster tem sido usado também para estudar a eficácia de várias estratégias de imunização contra *C. difficile* (BEST; FREEMAN; WILCOX, 2012). Duas estratégias são mais amplamente utilizadas no desenvolvimento de imunizantes específicos contra esse patógeno, as toxinas ou os componentes de superfície, considerados potenciais alvos para pesquisa envolvendo vacinas (PÉCHINÉ et al., 2018). Duas vacinas recombinantes quiméricas contra *C. difficile* foram propostas. A primeira consistiu na combinação dos domínios de ligação repetitivos (RBDs) de ambas as toxinas em uma única cadeia polipeptídica (LEUZZI et al., 2013; WANG et al., 2012), enquanto a segunda foi derivada de uma proteína TcdB em que o RBD original foi substituído pela porção correspondente de TcdA (LEUZZI et al., 2013; TIAN et al., 2012). Ambas as construções foram protetoras *in vivo*, impulsionando pesquisas adicionais sobre o desenvolvimento de polipeptídeos recombinantes como potenciais candidatos a vacinas (LEUZZI et al., 2013). Leuzzi et al. (2013) avaliaram a capacidade dos fragmentos das toxinas recombinantes de induzir imunidade robusta contra o desafio letal com *C. difficile*. Foi demonstrado que TcdA-B1 + TcdB-GT foi uma estratégia capaz de garantir a sobrevivência de todos os hamsters vacinados e induzir títulos de anticorpos neutralizantes capazes de prevenir o início da doença, assim sendo considerada uma potencial vacina contra a infecção (LEUZZI et al., 2013).

Embora a neutralização de toxinas possa prevenir os sinais clínicos, uma imunoterapia direcionada aos componentes da superfície visa prevenir a primeira etapa da patogênese do *C. difficile*, a colonização intestinal (PÉCHINÉ et al., 2018). Sendo assim, proteínas de superfície do *C. difficile* foram avaliadas como antígenos vacinais no modelo de hamster para prevenir a colonização intestinal. Um extrato de parede celular de uma cepa não toxigênica de *C. difficile* administrado por via intrarretal com toxina da cólera como adjuvante preveniu parcialmente a morte em hamsters

após desafio de *C. difficile* (PÉCHINÉ et al., 2013). No entanto, o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra *C. difficile* é desafiante. Um elemento importante é a escolha do antígeno. Ter como alvo um painel de antígenos pode ampliar a neutralização dos fatores de virulência do *C. difficile* e levar a uma potente eficácia terapêutica (PÉCHINÉ et al., 2018).

4.3.2 Modelo de estudo de doenças virais

4.3.2.1 COVID-19

O hamster sírio dourado é reconhecido como modelo valioso para estudos envolvendo doenças virais humanas emergentes e agudas causadas por vírus de RNA altamente patogênicos (MIAO et al., 2019). Modelos de pequenos animais que recapitulam as características clínicas e patológicas de COVID-19 em humanos são ferramentas essenciais para estudar a patogênese, transmissão, tratamentos antivirais e vacinas para esta ameaça emergente à saúde global. O hamster sírio dourado tem demonstrado ser um excelente modelo de estudos para essa doença visto que as características clínicas, cinética viral, alterações histopatológicas e respostas imunológicas nesta espécie se assemelham às manifestações descritas em muitos pacientes infectados com o vírus SARS-CoV-2 (CHAN et al., 2019). Os sinais clínicos incluem respiração rápida, diminuição da atividade e perda de peso que é mais grave no dia 6 pós-infecção. O envolvimento das vias aéreas é evidente desde a concha nasal até a traqueia e alvéolos pulmonares (RAMANATHAN et al., 2020). A imunohistoquímica demonstrou a presença de antígenos virais na mucosa nasal, células epiteliais brônquicas e em áreas de consolidação pulmonar nos dias 2 e 5 pós-inoculação (dpi), seguidos de rápida eliminação viral e hiperplasia de pneumócitos em 7 dpi (SIA et al., 2020).

Chan, Jasper Fuk-Woo et al. (2019) previram que o domínio de ligação ao receptor da glicoproteína Spike de SARS-CoV-2 liga-se bem não apenas ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) de humanos e macacos, mas também ao de hamsters sírios dourado (CHAN et al., 2019). Imai Masaki et al. (2020) analisaram a capacidade de replicação de isolados de SARS-CoV-2 através da avaliação de títulos infecciosos em órgãos de hamsters de diferentes idades. Foi

observado após a infecção que os dois grupos de idades diferentes apresentaram altos títulos de vírus nas conchas nasais, traqueia e pulmões, sem diferença apreciável entre as doses de inoculação. Os exames histopatológicos também demonstraram lesões pulmonares graves que se estenderam por áreas maiores para hamsters infectados com a dose alta em comparação com aqueles infectados com a dose baixa (IMAI et al., 2020). O vírus SARS-CoV-2 também induziu lesões em múltiplos órgãos porém ainda é necessário mais investigações sobre a ocorrência de distúrbios na funcionalidade durante ou após a infecção (SONG et al., 2021).

Hamsters sírios dourados também foram utilizados como modelos para estudos envolvendo a transmissão do SARS-CoV-2 visto que já foi demonstrado que hamsters previamente desafiados com o vírus infectaram companheiros de gaiola saudáveis (CHAN et al., 2019). Além disso, estudos envolvendo hamsters idosos foram realizados. Selvaraj et al. (2021) forneceram dados utilizando animais de idade avançada que não sobreviveram ao desafio letal provavelmente devido ao desenvolvimento de pneumonia grave e formação de trombo no átrio esquerdo. Seria interessante medir outros correlatos imunológicos em hamsters idosos infectados, mas a relativa falta de reagentes para a realização de ensaios imunológicos neste modelo impossibilitou mensurar os perfis de citocinas (SELVARAJ et al., 2021).

Visto a necessidade urgente de desenvolver estratégias seguras e eficazes para o tratamento da COVID-19, YE et al. (2021) demonstraram que o uso de metilprednisolona sozinho ou em combinação com remdesivir é benéfico para hamsters infectados com SARS-CoV-2. Em animais infectados tratados com metilprednisolona mais remdesivir, a inflamação do tecido foi aliviada e a replicação do SARS-CoV-2 foi inibida. Assim, a combinação de metilprednisolona e remdesivir para o tratamento de COVID-19 merece avaliação adicional em ensaios clínicos randomizados. Entretanto, a dose, a via de administração e o momento do tratamento ainda precisam ser otimizados (YE et al., 2021).

Apesar de estudos terem demonstrado o hamster sírio dourado como modelo animal para SARS-CoV-2, poucas vacinas candidatas foram testadas no modelo animal (BROCATO et al., 2021). Alguns estudos envolvendo a eficácia de vacinas focam em vacinas inativadas visto que essas já são utilizadas de forma eficaz para conter muitas doenças infecciosas. Mohandas et al. (2021), desenvolveram três

vacinas candidatas inativadas do vírion inteiro BBV152A, BBV152B e BBV152C. Foi demonstrada a imunogenicidade e eficácia protetora desses candidatos vacinais visto a ocorrência de carga viral mais baixa, ausência de patologia pulmonar e altos títulos de anticorpos neutralizantes pós-infecção nos animais imunizados (MOHANDAS et al., 2021). No estudo de Tostanoski et al. (2020), foi relatado que uma única imunização com um vetor Ad26 que codifica o imunógeno S protegeu contra doença clínica grave após desafio com SARS-CoV-2 em alta dose em hamsters. A ligação induzida pela vacina e as respostas de anticorpos neutralizantes se correlacionaram com a proteção contra a doença clínica, bem como a replicação do vírus foi reduzida no trato respiratório superior e inferior. O Ad26-S.PP, como foi nomeado, também denominado Ad26.COVS.S, está atualmente sendo avaliado em ensaios clínicos (TOSTANOSKI et al., 2020). Portanto o hamster sírio dourado pode ser considerado um modelo útil para estudos envolvendo a avaliação de vacinas, terapias antivirais e outras contramedidas para a doença a um custo relativamente baixo em comparação com outros modelos animais, como furões e primatas não humanos, que também se mostraram suscetíveis ao SARS-CoV-2 (ROBERTS et al., 2005; TOSTANOSKI et al., 2020).

4.3.2.2 Febre Amarela

A pesquisa envolvendo a patogênese e tratamento da febre amarela tem sido limitada pela necessidade do uso de primatas não humanos como modelo animal (TESH et al., 2001). O hamster sírio dourado foi identificado como hospedeiro suscetível à replicação do vírus da febre amarela (YFV). As cepas Jimenez e Asibi de YFV foram adaptadas para hamsters por passagens em série permitindo que estudos básicos *in vivo* acerca da patogênese e terapias virais sejam realizados em um sistema de pequenos animais e relativamente barato, antes de mover os estudos para modelos de primatas não humanos (JULANDER, 2016; SBRANA et al., 2006).

A doença em hamsters é semelhante em muitos aspectos à dos humanos e os animais infectados demonstraram manifestações clínicas como letargia e perda de apetite (JULANDER, 2016; TESH et al., 2001). Assim como encontrado em pacientes humanos infectados pelo vírus da febre amarela, os animais também demonstraram lesões histopatológicas no fígado, baço e pâncreas (SBRANA et al., 2006). Além

disso, Li et al. (2008) também demonstraram que a infecção de hamster sírio dourado resulta em respostas imunes que correspondem às observadas em humanos infectados, com acentuado aumento de IFN- γ , IL-2 e TNF- α no baço, rim e coração, mas níveis reduzidos destes observados no fígado. Além disso, esses estudos encontraram níveis aumentados de IL-10 e níveis reduzidos de TGF- β no fígado, baço e coração nos estágios inicial e médio da infecção (LI et al., 2008; MIAO et al., 2019).

Este modelo animal foi usado para testar tratamentos antivirais contra a infecção por YFV (MCARTHUR et al., 2020). Estudos demonstraram diferentes candidatos promissores para a terapia em pacientes humanos. O composto T-1106 demonstrou ampla atividade antiviral, baixa toxicidade e eficácia favorável *in vivo*. Além disso, também demonstrou melhora significativa dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e alteração de peso em comparação com o tratamento com placebo (JULANDER et al., 2007). O composto BCX4430 também demonstrou potencial terapêutico possuindo atividade antiviral com tolerabilidade aceitável no modelo de hamster resultando em melhora significativa na sobrevivência, alterações de peso, níveis séricos de ALT e viremia (JULANDER et al., 2014). Além disso, também foi relatada a eficácia antiviral de um interferon alfa (IFN- α) sendo expresso por um vetor de adenovírus do tipo 5, denominado DEF201. Os resultados demonstraram que o DEF201 reduziu efetivamente o título viral no fígado e infecção sérica no hamster (JULANDER et al., 2011). Além de possuir valor tanto como tratamento, pois pode ser rapidamente e facilmente distribuído para população de risco, também tem importância como profilático em um surto de febre amarela ou para pessoas que entram em uma área suspeita de infecção (JULANDER et al., 2011).

O modelo animal também foi utilizado para a pesquisa envolvendo a vacina XRX-001, contendo antígeno da febre amarela inativado com adjuvante de alumínio, que pode induzir altos títulos de anticorpos neutralizantes (nAb) *in vivo* para proteger hamsters sírios dourado da infecção pelo YFV (JULANDER; TRENT; MONATH, 2011; MIAO et al., 2019). Hamsters também foram utilizados para confirmar o papel crítico de anticorpos neutralizantes (nAb) estimulado pela vacina XRX-001 na proteção contra a doença do vírus YF e para identificar o nível mínimo de nAb necessários para prevenir a doença (JULANDER; TRENT; MONATH, 2011).

4.3.3 Modelo de estudo de doenças parasitárias

4.3.3.1 Leishmanioses

Segundo Bruce e Hindle (1934), o hamster sírio dourado é o melhor modelo para estudar as leishmanioses. Ao longo dos anos, os aspectos relacionados a relação parasito-hospedeiro infectado por cepas do complexo *donovani* foram estudados, proporcionando assim uma vasta bibliografia acerca dos aspectos relacionados à clínica, biologia, fisiologia, imunologia, patologia, diagnóstico e terapêutica da doença (DAS; MOREIRA, 2012). Os sinais imunológicos e clínico-patológicos apresentados pelos hamsters estão em linha com os da leishmaniose visceral (LV) sintomática humana (SAINI et al., 2020). O modelo animal pode apresentar sintomas iguais aos da LV humana, como caquexia, pancitopenia, hepatoesplenomegalia, glomerulonefrite, hipergama-globulinemia, hipoalbuminemia quando causada por *L. donovani* (MURILLO et al., 2019), e supressão da resposta proliferativa das células T aos antígenos do parasita. Esta disfunção foi atribuída à incapacidade das células apresentadoras de antígenos (APCs) infectadas de estimular células T específicas (DE OLIVEIRA et al., 2004).

Por conseguir manifestar a infecção por *Leishmania*, o hamster é muito utilizado em estudos envolvendo a imunologia e patologia da doença para a compreensão dos fatores envolvidos na patogênese da leishmaniose (SAINI; RAI, 2020), além de também ser empregado para avaliação de vacinas desenvolvidas contra a doença. Foi demonstrado que os animais infectados com o parasito tiveram a expressão aumentada de mRNA de citocinas associadas à uma resposta imune do tipo Th1, como IFN- γ , IL-2 e TNF- α , mas indução limitada de mRNA de IL-4, além disso, diferente do que é encontrado no modelo murino, não foi encontrado no fígado e no baço dos hamsters o mRNA da oxido nitricosintetase induzida (iNOS), indicando que possivelmente o óxido nítrico não tem papel na função dos macrófagos, podendo assim explicar parcialmente a infecção descontrolada em hamsters (MIAO et al., 2019).

Outros estudos buscam elucidar a importância da via de inóculo de *Leishmania*, visto que esta influencia no curso da infecção da leishmaniose experimental. As vias mais utilizadas em estudos são as vias intracardíaca e intraperitoneal e não as que se

aproximam da infecção natural, como as vias subcutânea e intradérmica (DAS; MOREIRA, 2012). Além disso, o uso do hamster como modelo para testar a capacidade de infecção de diferentes cepas de *Leishmania* em um hospedeiro através da via oral também foi explorado (REIMANN, 2018).

O hamster também é utilizado para a avaliação de vacinas candidatas para a leishmaniose. Em uma revisão, Saini et al. (2020) citam a avaliação de potenciais antígenos para uma vacina contra leishmaniose, como o estudo de Fragaki et al. (2001), envolvendo a vacinação com cDNA da proteína pape22 de *Leishmania infantum*, que demonstrou ser útil para gerar uma resposta imune Th-1 e regular negativamente respostas do tipo Th-2, além disso ocorreu a redução em 50% das cargas parasitárias no sangue dos animais vacinados, assim evitando a circulação de *Leishmania*, sendo de extrema importância para prevenir sua transmissão e, assim, controlar a disseminação da doença (FRAGAKI et al., 2001). Outro estudo citado envolvendo antígenos vacinais demonstrou que a vacina de DNA que codifica para a proteína de membrana de cinetoplastídeo-11 (KMP-11) ofereceu proteção total contra duas cepas de *L. donovani* no hamster (BASU et al., 2005).

Além disso, o hamster sírio dourado foi testado em relação a sua suscetibilidade para a infecção por uma espécie dermatrópica de *Leishmania*, ou seja, *Leishmania viannia*. Neste estudo foi demonstrado que a infecção foi capaz de gerar lesões cutâneas no animal, sendo esta a principal apresentação clínica da leishmaniose cutânea assim como é observado em humanos (GOMES-SILVA et al., 2013).

4.3.3.2 Opistorquíase

O hamster sírio dourado também é um dos modelos animais mais comuns de opistorquíase causada por parasitos do gênero *Opisthorchis* com diferenças geográficas, sendo eles *O. viverrini* e *O. felineus* (BOONMARS; BOONJARASPINYO; KAEWSAMUT, 2009; LVOVA et al., 2012). Os vermes hepáticos induzem vários distúrbios hepatobiliares, incluindo hepatomegalia, colangite, fibrose periductal, inflamação crônica, abscessos hepáticos e potencialmente colangiocarcinoma (PAKHARUKOVA ET AL., 2019). O hamster sírio dourado infectado com *O. viverrini* desenvolve alterações proliferativas, incluindo hiperplasia dos ductos biliares

de ordem primária e secundária, hiperplasia adenomatosa, metaplasia e fibrose periductal. Além disso, as células inflamatórias, incluindo linfócitos, monócitos, macrófagos, eosinófilos e células plasmáticas, acumulam-se ao redor dos ductos biliares de maneira semelhante a humanos infectados (HANPANICH et al., 2018). O modelo demonstrou alterações no fígado, vesícula biliar opaca e os ductos biliares hepáticos espessos (BOONMARS; BOONJARASPINYO; KAEWSAMUT, 2009). Entretanto, a infecção causada pelo *O. felineus* em hamsters provocou danos maiores no fígado, em oposição ao *O. viverrini*. Além disso, um estudo comparativo da histopatologia da infecção pelos dois parasitos demonstrou que as lesões hepatobiliares dos hamsters do grupo infectado pelo *O. felineus* foram mais progressivas e graves do que as do grupo *O. viverrini* (LVOVA et al., 2012). A agressividade da infecção pelo *O. felineus* pode ser justificada pelo fato que o parasito cresce mais rapidamente em comparação com o *O. viverrini* e assim pode ser mais agressivo em termos de invasão e danos aos tecidos (LVOVA et al., 2012).

A infecção pelo parasito também causa alterações no metabolismo lipídico (PERSHINA et al., 2017) e assim como na infecção por *O. viverrini* causa alterações histológicas na vesícula biliar e nos ductos biliares extra-hepáticos como hiperplasia epitelial e inflamação crônica (PAKHARUKOVA et al., 2019). Além disso, os hamsters foram utilizados para pesquisa envolvendo imunologia e biologia molecular da infecção causada por *O. viverrini*. Reações inflamatórias agudas, incluindo congestão, infiltração de neutrófilos e eosinófilos, ocorreram na vesícula biliar já nos dias 7–14 da infecção no animal. Ademais foi confirmado o potencial carcinogênico do parasito para causar o colangiocarcinoma em modelos humanos e animais (WONGRATANACHEEWIN; SERMSWAN; SIRISINHA, 2003). A utilização do hamster como modelo animal para a infecção pode servir para descobrir novos conhecimentos sobre a capacidade do parasito em regular o metabolismo do hospedeiro, os quais podem ser aplicados na busca de um alvo para terapia anti-helmíntica (PERSHINA et al., 2017).

O número de medicamentos usados para tratar a infecção por esses parasitos é bastante limitado; apesar de já ser utilizado o praziquantel (PZQ), o medicamento não é 100% eficiente (PAKHARUKOVA; PAKHARUKOV; MORDVINOV, 2018). Assim, modelos de hamster são utilizados para a avaliação de novas terapias para tratar a infecção, incluindo estratégias baseadas na combinação de medicamentos.

Pakharukova et al. (2018) avaliaram a utilização do PZQ juntamente de outras drogas, o miconazol (MIC) e clotrimazol (CLZ) visto que essas substâncias apresentaram certa eficácia *in vitro*. A combinação das drogas não demonstrou benefícios *in vivo* em relação ao praziquantel único, entretanto a baixa eficácia pode estar relacionada às baixas concentrações da droga no sistema hepatobiliar (PAKHARUKOVA; PAKHARUKOV; MORDVINOV, 2018). A tribendimidina (TBN) é um potencial candidato para o tratamento da doença. Foi demonstrado que a droga possui eficácia contra a infecção por *O. viverrini* em baixa intensidade, além de também ter demonstrado possuir um bom perfil de segurança e causar menos eventos adversos (SAYASONE et al., 2018). Pakharukova et al. (2019) demonstraram que a droga também é eficiente contra a infecção pelo *O. felineus*. Além disso, os resultados também mostraram que a eficácia do TBN é semelhante à do PZQ *in vitro* e *in vivo* em diferentes estágios da doença: um e três meses após a infecção (PAKHARUKOVA ET AL., 2019).

O hamster sírio dourado também demonstrou ser um modelo para avaliação de vacinas contra a infecção. Chaiyadet et al. (2019) utilizaram hamsters para avaliar a eficácia de vacinas contra a infecção por *O. viverrini*. Foi demonstrado que a imunização utilizando vesículas extracelulares (EVs) e proteínas recombinantes de *O. viverrini* produziu uma resposta de anticorpos essencial para a proteção, resultando na redução de parasitos e da carga de ovos. Os resultados encontrados demonstraram e apoiaram a ideia de que almejar interações entre EVs e suas células hospedeiras de mamíferos é uma promessa para a descoberta de novos candidatos vacinais (CHAIYADET et al., 2019).

4.3.4 Modelo de estudo de doenças não transmissíveis

Dada a similaridade do processo de carcinogênese entre humanos e hamsters, este modelo animal é uma importante ferramenta para pesquisas em oncologia oral (MARTÍNEZ et al., 2020). A bolsa jugal imunoprivilegiada do hamster torna-o um dos modelos animais mais bem caracterizados, especialmente para o estudo do carcinoma epidermóide oral (YAPIJAKIS et al., 2019). As principais vantagens deste modelo são a semelhança entre a mucosa da bolsa bucal do animal e a mucosa oral humana queratinizante, ausência de tumores espontâneos e suscetibilidade a

influências sistêmicas, como hormônios e micronutrientes (por exemplo, retinóides, carotenóides, tocoferóis, etc.) (GIMENEZ-CONTI; SLAGA, 1993). Além, de elucidar o mecanismo de transformação neoplásica, é capaz de fornecer pistas para quimioprevenção eficaz (NAGINI et al., 2009) e possibilitar a avaliação do tecido pré-canceroso ao redor do tumor visto que nesse modelo os tumores são induzidos por um processo que imita o processo espontâneo de transformação maligna (HEBER et al., 2006; KREIMANN et al., 2001) e levam ao desenvolvimento do que tem sido denominado, globalmente, “tecido pré-canceroso”, a partir do qual surgem os tumores (HEBER et al., 2014). Assim como em cânceres orais humanos pré-malignos e malignos, ocorrem eventos em comum como mutações, bem como alterações na expressão de oncogenes e genes supressores de tumor, como p53, H-ras e p16, expressão de marcadores de proliferação celular, uma resposta a citocinas relacionadas ao sistema imunológico, como interleucinas e fatores de necrose tumoral e aumento do crescimento em resposta a vários fatores, como fator de crescimento epidérmico e fator de crescimento transformador (VAIRAKTARIS et al., 2008).

O protocolo para indução de carcinogênese química aplicando o carcinógeno dimetilbenz (a) antraceno (DMBA) no modelo de bolsa da bochecha de hamsters foi introduzido em 1954 por Salley e posteriormente otimizado por Morris (MORRIS, 1961; SALLEY, 1954). Como o DMBA está espalhado por toda a bolsa, simula a ação da exposição oral ao álcool e ao fumo (EL-BAYOUMY et al., 2017; HUGHES et al., 2019; YAPIJAKIS et al., 2019). Mais adiante, foi demonstrado que a agressividade do protocolo se correlaciona positivamente com a produção e o volume do tumor, prejudicando progressivamente o acompanhamento de longo prazo devido ao declínio do animal (HUGHES et al., 2019).

A bolsa na bochecha de hamster é muito utilizada para encontrar o composto ideal, a dose e também avaliar a melhor estratégia para a terapia de captura de nêutrons de boro (BCNT). A BNCT é uma terapia que em princípio, tem o potencial de ser o tratamento ideal para muitos tipos de câncer. É baseada na captação seletiva de compostos alvo boro-10 pelas células tumorais seguida por irradiação de nêutrons (HEBER et al., 2014). Assim a terapia permite a aplicação de uma alta dose de radiação de partículas seletivamente às células tumorais nas quais o composto de boro-10 foi acumulado. Entretanto, o composto BNCT “ideal” ainda não foi encontrado visto que para isso ele não deve ser tóxico em doses terapêuticas, se acumular

seletivamente nas células tumorais e atingir todas as células tumorais de maneira homogênea (GARABALINO et al., 2019).

Trivillin et al. (2006), avaliaram a biodistribuição de um composto decahidrodecaborato (GB10) que foi proposto como um agente de boro. Foi demonstrado que o GB10 é capaz de fornecer quantidades terapêuticamente úteis de boro, embora não seletivamente, para tumores na bolsa da bochecha de hamster. No mesmo estudo foi demonstrado altos níveis tumorais de boro com combinações de GB-10 e boronofenilalanina (BPA) assim descrevendo que GB-10-BNCT e GB10 BPA-BNCT são protocolos terapêuticamente eficazes para câncer oral experimental (TRIVILLIN et al., 2006). Além disso, já foi demonstrado que as concentrações potencialmente terapêuticas de boro poderiam ser administradas a tumores na bochecha de hamster empregando BPA como agente de liberação de boro (MOLINARI et al., 2012). Entretanto, ainda são necessários estudos com diferentes estratégias para a entrega do boro nos tecidos tumorais (TRIVILLIN et al., 2006) visto que a otimização da entrega de compostos de boro às células neoplásicas contribuirá para a eficácia terapêutica da BNCT (MOLINARI et al., 2012).

Uma atenção considerável tem sido focada no sistema de entrega lipossomal como uma nova modalidade de direcionamento. Os lipossomas são veículos de entrega de drogas eficientes que são capazes de entregar seletivamente grandes quantidades de uma ampla variedade de agentes Boro-10 ao tecido tumoral. Assim, Heber et al. (2014), avaliaram a eficácia terapêutica e a radiotoxicidade potencial da BNCT mediado por lipossomas carregando os compostos *nido*-carborano (MAC) e borano poliédrico (TAC) (MAC-TAC) no modelo de câncer oral de bolsa na bochecha de hamster, o qual demonstrou conseguir controlar o tumor em um longo período de acompanhamento de 16 semanas (HEBER et al., 2014).

Outra estratégia estudada foi a eletroporação, para melhorar o direcionamento do boro ao tumor, o qual é essencial para a eficácia terapêutica do BNCT. A eletroporação consiste na permeabilização temporária da membrana celular pela formação de poros transitórios com apenas alguns nanômetros de diâmetro, assim são realizados os pulsos elétricos aplicados no tumor. Embora o procedimento real não seja seletivo para o tumor, ele afeta preferencialmente o tecido tumoral (GARABALINO et al., 2019). Sendo assim Garabalino et al. (2019), avaliaram o uso

da eletroporação para melhorar o direcionamento de ¹⁰B em BNCT mediado pelo composto de boro GB-10. Os resultados evidenciaram que a otimização da biodistribuição e microdistribuição de boro empregando eletroporação precoce pode ser uma ferramenta para melhorar a eficácia terapêutica da BNCT mediado por GB-10 *in vivo* no modelo de câncer oral de bolsa na bochecha de hamster, minimizando a toxicidade em pacientes normais e tecidos pré-cancerosos (GARABALINO et al., 2019). Ademais o modelo de bolsa da bochecha do hamster é utilizado para avaliar o nível de mucosite oral grave causada após a BNCT, que foi demonstrado estar relacionado ao nível de agressividade do tecido exposto. Com tudo, foi evidenciado que a BNCT foi terapêuticamente útil para tratar tumores e inibir o desenvolvimento de novos tumores em tecido cancerígeno ou pré-canceroso. Mas estudos futuros ainda são necessários para avaliar diferentes protocolos de BNCT, incluindo tratamentos adaptados ao paciente (HUGHES et al., 2019).

Outros estudos utilizam o modelo de carcinogênese oral para avaliação de compostos quimiopreventivos. Babukumar et al. (2017), demonstraram o potencial quimiopreventivo da hesperetina, uma flavanona natural cujas propriedades farmacológicas, como antiinflamatório, antioxidante e anti-hipersensibilidade, já foram demonstradas, atuando na inibição da formação de tumor na mucosa bucal. O possível mecanismo para os efeitos protetores da hesperetina incluem o aumento da produção das enzimas antioxidantes, níveis alterados de agentes desintoxicantes, e da reversão do estado da peroxidação lipídica (LPO). Entretanto, mais estudos são necessários para melhor ilustrar o mecanismo de proteção (BABUKUMAR et al., 2017). Um estudo evidenciou o potencial quimiopreventivo de berberina, um composto alcalóide de isoquinolina, que demonstrou prevenir ou suprimir as fases iniciais da carcinogênese oral. Provavelmente devido ao seu potencial antioxidante e modulador efeito na cascata de desintoxicação durante carcinogênese oral induzida por DMBA (MANOHARAN et al., 2012).

Além disso, o modelo também foi utilizado para avaliar a expressão de biomarcadores como P53, BCL2, RB1 e ERBB2 (JACINTO-ALEMÁN et al., 2013). Vidya Priyadarsini et al. (2012), usaram o modelo de hamster de carcinogênese sequencial para estudar o papel da via de sinalização Wnt/ β -catenina durante a progressão do carcinoma de células escamosas oral (VIDYA PRIYADARSINI ET AL., 2012).

4.4 Ferramentas para análise de resposta imunológica em hamsters

4.4.1 Resposta humoral

Os anticorpos, também denominados imunoglobulinas (Ig), secretados por linfócitos B diferenciados, participam da imunidade humoral fornecendo uma defesa contra patógenos invasores por meio de diversos mecanismos, sendo assim, respostas eficientes de anticorpos são necessárias para imunidade a agentes infecciosos em roedores (JULANDER; TRENT; MONATH, 2011; LALANI; ZHU; XIE, 2018). Hamsters sírios dourado são conhecidos por produzir IgM e as subclasses de IgG: IgG1, IgG2 e IgG3, embora nem todas as linhagens consanguíneas produzam IgG3 (COE; SCHELL; ROSS, 1995; CONRAD et al., 2017).

Os ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) são considerados uma ferramenta valiosa para a avaliação da imunidade humoral em hamsters em resposta a agentes infecciosos. Existem diversos subtipos do ensaio, entretanto o uso de ELISA indireto é ideal para a detecção de anticorpos no soro de hamsters. Anticorpos anti-IgG e anti-IgM de hamster estão disponíveis comercialmente (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Estudos envolvendo a avaliação da resposta humoral em diferentes doenças vem sendo desenvolvidos utilizando o ensaio ELISA com um antígeno recombinante, purificado ou extratos protéicos para revestir as placas para que a detecção de anticorpos específicos no soro seja alcançada.

Estudos envolvendo a síndrome cardiopulmonar por hantavírus causada pelo vírus dos Andes, febre hemorrágica Ebola e *MERS-CoV* utilizaram essa ferramenta valiosa (DE WIT et al., 2013; SAFRONETZ et al., 2009; WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Outros estudos relataram o uso do ensaio ELISA de avidéz para detectar a maturação dos anticorpos IgG específicos encontrados na infecção por *Leishmania* em um modelo de hamster experimental imunizado. Anticorpos de avidéz produzidos durante a Leishmaniose Visceral (LV) estão associados à natureza evolutiva da doença visto que são usados para discriminar infecções agudas de crônicas, entretanto são pouco explorados em modelos experimentais dificultando o entendimento do verdadeiro papel dos anticorpos durante a LV (DE CARVALHO et al., 2020)

O ensaio ELISA é muito utilizado para caracterizar a resposta imune humoral induzida por vacinas, visando entender os mecanismos pelos quais os anticorpos protegem contra a infecção, a fim de facilitar o desenho de novas formulações vacinais, uso de novos adjuvantes e sistemas de entrega (ROSSI et al., 2019). Estudos envolvendo vacinas recombinantes, para doenças como leptospirose e leishmaniose, já relataram o uso do ELISA indireto como ferramenta para a quantificação de títulos de anticorpos gerados pela imunização e para a caracterização de seus isotipos (CONRAD et al., 2017; DA CUNHA et al., 2019; EVANGELISTA et al., 2017; FERNANDES et al., 2017). Normalmente, os perfis de subclasse de IgG em hamsters são determinados para identificar sua correlação com a proteção (TECHAWIWATTANABOON et al., 2019) visto que a produção relativa de subclasses de anticorpos IgG após a vacinação pode atuar como uma indicação do tipo de resposta imune humoral induzida pela vacina (JANITZEK et al., 2021). De acordo com o isotipo de IgG determinado pelo ELISA como IgG 1, IgG2 / 3 ou IgG3 a resposta é caracterizada como sendo Th1, Th2 ou Th1 / Th2 (DA CUNHA et al., 2019). Foi demonstrado que a IgG2 de hamster se liga ao sistema complemento pela via clássica em uma reação antígeno-anticorpo, enquanto a IgG1 de hamster não. Entretanto a troca de subclasse de IgG não é tão clara em hamsters quanto em camundongos, dificultando a compressão dos mecanismos da resposta induzida pela imunização no modelo animal (CONRAD et al., 2017).

Apesar da grande utilização de ensaios de ELISA para a caracterização de anticorpos IgM e IgG, apenas esses insumos estão disponíveis, dificultando assim a análise da resposta imune em modelos de hamsters para estudos de diversas doenças. Sendo assim, avanços são necessários para elucidar melhor o papel da resposta imune humoral e ser capaz de detectar anticorpos IgE, IgA e IgD, que são importantes em muitos modelos imunológicos, o que aumentaria o valor do uso de hamsters como modelo animal (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

4.4.2 Resposta Celular

Apesar dos hamsters sírios dourado serem considerados modelos animais valiosos para o estudo de diversas doenças, ainda faltam reagentes específicos para ensaios de avaliação da resposta imune celular no modelo, diferentemente do que

ocorre para outros modelos animais, como camundongos, ratos e primatas não humanos. Atualmente os pesquisadores são limitados a estudos sobre a progressão da doença (sintomas clínicos), resposta imune humoral e patologia (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017; ZIVCEC et al., 2011).

O ensaio ELISA apesar de ser utilizado primeiramente para detecção de anticorpos, foi otimizado para a detecção de uma ampla variedade de proteínas, como as citocinas, que regulam também a imunidade celular. Para espécies como camundongos, primatas não humanos e humanos, um grande número de kits estão disponíveis comercialmente para a detecção de uma ampla gama de citocinas ou quimiocinas. Além disso, anticorpos contra citocinas dessas espécies também estão prontamente disponíveis, incluindo anticorpos com conjugados enzimáticos, permitindo a otimização de protocolos individuais (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Entretanto esses reagentes não estão disponíveis para hamsters. Um estudo avaliou se ensaios baseados em anticorpos (ELISA, Luminex) desenvolvidos para detecção de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e outros fatores séricos de outros roedores não apresentavam reatividade cruzada com as mesmas moléculas em hamster sírio. Os resultados indicaram reatividade cruzada limitada das proteínas do hamster sírio com anticorpos contra citocinas de outros roedores. Foi concluído então que kits ELISA e kits para a detecção de citocinas e quimiocinas de outras espécies, como camundongos e ratos, eram de pouco valor para uso em hamsters (WAHL-JENSEN et al., 2012; ZIVCEC et al., 2011).

Devido à falta de reagentes para medir as concentrações séricas de efetores imunes de hamster sírio, os estudos têm se limitado a determinar perfis de citocinas no nível transcricional (OLIVEIRA et al., 2015). Assim, a expressão gênica desses fatores durante a infecção é rastreada por meio da qRT-PCR (Quantitative Reverse Transcription PCR) (WAHL-JENSEN et al., 2012). A PCR em tempo real é vantajosa para a quantificação do transcrito de citocinas, porque pode ser usada para monitorar com precisão a expressão simultânea de uma série de citocinas de uma única amostra e requer apenas pequenas quantidades de molde (VERNEL-PAUILLAC; MERIEN, 2006).

Um estudo descreveu um painel com 51 genes de hamster relacionados ao sistema imunológico e quatro genes de referência internos, além de genes envolvidos em processos de apoptose, integridade de junções celulares, proliferação celular e

coagulação (ZIVCEC et al., 2011). O ensaio é utilizado para avaliar a resposta imune induzida em diversas doenças, desde doenças induzidas por vírus como vírus dos Andes (PRESCOTT et al., 2013), febre hemorrágica do vírus ebola (EBIHARA et al., 2013), até doenças bacterianas como a leptospirose (MATSUI et al., 2016; VERNEL-PAUILLAC; MERIEN, 2006; VERNEL-PAUILLAC; GOARANT, 2010) e doenças parasitárias como a leishmaniose (RÊGO et al., 2019; RIBEIRO-ROMÃO et al., 2014).

Além disso, a técnica já vem sendo utilizada em estudos envolvendo a resposta celular induzida por novas formulações vacinais (DELLAGOSTIN et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015). No entanto, ainda existem algumas limitações como discrepâncias entre mRNA e níveis de proteína, e uma incapacidade de distinguir entre certos tipos de células devido à falta de anticorpos específicos para hamster, detectando assim apenas respostas sistêmicas e citocinas totais, quimiocinas e outros marcadores. Ainda assim, a qRT-PCR é um dos métodos mais valiosos que permite aos pesquisadores a análise imunológica em modelo de hamster, proporcionando a detecção simultânea de um grande número de marcadores imunológicos de forma confiável e sensível (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

O uso da citometria de fluxo para a detecção de tipos específicos de células tornou-se uma prática imunológica padrão. A técnica é utilizada para identificar a presença de marcadores específicos nas células, o status de ativação dos linfócitos, de subconjuntos específicos de células que estão presentes nos tecidos e quais subconjuntos celulares estão produzindo certas citocinas. Devido a sua sensibilidade e especificidade tornou-se uma das ferramentas mais valiosas para a análise de resposta imune. Entretanto, para hamsters, não existem anticorpos monoclonais contra marcadores de superfície celular específicos para uso em citometria de fluxo (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Contudo, anticorpos monoclonais comerciais de ratos, camundongos, cabras e coelhos identificaram com sucesso marcadores de superfície de células imunes de hamster (células T, células B, células dendríticas, macrófagos) por meio de citometria de fluxo (HAMMERBECK; HOOPER, 2011; MCNEES ET AL., 2011; WAHL-JENSEN et al., 2012). Além disso, anticorpos contra IgG e IgM de hamsters também podem ser utilizados para detectar células B de hamsters na citometria de fluxo (HAMMERBECK; HOOPER, 2011). Ainda assim, o uso de citometria de fluxo em hamsters é limitado existindo apenas esses anticorpos

disponíveis quando comparado a diversos já desenvolvidos para o uso com células de camundongos e ratos (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

Com a clonagem das sequências de cDNA de citocinas de hamster tornou-se possível desenvolver reagentes para esta espécie (MELBY et al., 1998; MENDEZ et al., 2005). Isso abriu uma porta para desenvolvimento de novos reagentes e insumos para explorar a resposta imunológica nesse importante modelo animal.

5. Discussão

Modelos animais são ferramentas valiosas para desvendar a fisiopatologia de doenças infecciosas e não-infecciosas fornecendo, assim, informações sobre estratégias de desenvolvimento de novas drogas, tratamentos, procedimentos e vacinas (GYSENS, 2019). O uso de animais como modelo de estudos promoveu um grande avanço em diversas áreas da ciência contribuindo para o conhecimento científico e qualidade de vida (ANDERSEN; WINTER, 2017). Deste modo, para uso de modelos animais na pesquisa é necessário planejamento e grande conhecimento acerca do biomodelo a ser escolhido. A escolha do biomodelo deve ser feita seguindo alguns critérios, como o tamanho do animal, disponibilidade de recursos, facilidade de manipulação, permissividade à infecção e a semelhança da infecção com humanos, segurança e custos (SARKAR; HEISE, 2019).

Estão entre os modelos animais mais utilizados os camundongos (*Mus musculus*), ratos (*Rattus norvegicus*), hamsters (*Mesocricetus auratus*) e cobaias (*Cavia porcellus*). No entanto, com a crescente utilização dos modelos animais, questões éticas se tornaram mais frequentes e, até hoje, essas questões são balisadas usando como base o princípio dos 3Rs, descrito por Willian Russel e Burch em 1959, o qual baseia-se em: Redução (*Reduction*), Refinamento (*Refinement*), e Substituição (*Replacement*) (ANDERSEN; WINTER, 2017). Os métodos alternativos podem ser tanto testes *in vitro*, aqueles que normalmente acontecem em condições controladas, quanto testes *in silico*, realizados através da biologia computacional. Entretanto, esses métodos não substituem totalmente o uso de animais e servem como triagem para busca de informações visando a diminuição do número de animais utilizados em testes *in vivo*. É ressaltado então a importância de agrupar abordagens *in vivo*, *in vitro* e *in silico* (VICTAL et al., 2014).

O hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) ao longo dos anos foi ganhando espaço e caracterizando-se como um modelo animal valioso para diversas doenças. Dentre essas, estão doenças bacterianas, virais, parasitárias, fúngicas, e também doenças metabólicas (MIEDEL; HANKENSON, 2015). Algumas características justificam o seu crescente uso em pesquisas como seu comportamento sociável, tamanho intermediário, suas características anatômicas, além de ser

suscetível a diversas doenças infecciosas (MIAO et al., 2019). Assim, os hamsters são utilizados para estudos envolvendo desde a avaliação e eficácia de vacinas e drogas até o isolamento de diversos patógenos humanos (MELBY et al., 1998).

Entretanto, apesar dos avanços como biomodelo, existem poucos reagentes disponíveis para avaliar características da resposta imunológica em hamsters quando comparado a outros modelos animais, como ratos e camundongos, dificultando a realização de análises mais robustas (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017). Uma possível explicação para essa falta de reagentes disponíveis seria devido à países como os Estados Unidos possuem animais como os hamsters e cobaias protegidos pela lei federal *Animal Welfare Act* (AWA) que regula o uso e o cuidados de animais na pesquisa. Devido a isso essas espécies possuem regulamentações mais exigentes e inspeções anuais oficiais do USDA acarretando uma diminuição no uso desses animais em laboratórios nos EUA (GOMES-SOLECKI; SANTECCHIA; WERTS, 2017). Sendo assim, o uso do modelo animal em estudos acaba sendo limitado tornando a produção de reagentes específicos para análise da resposta imunológica pouco explorada (GOMES-SOLECKI; SANTECCHIA; WERTS, 2017).

Visto que a caracterização de uma resposta imunológica é de extrema importância para o estudo da progressão de doenças e para a avaliação de novas terapias e vacinas, os pesquisadores são limitados a avaliar a resposta celular a nível de transcrição com ensaios de RT-qPCR para detectar a expressão de genes relacionados ao sistema imunológico (WAHL-JENSEN et al., 2012). A técnica é considerada uma valiosa ferramenta permitindo detectar com precisão a expressão simultânea de uma série de citocinas. Entretanto, ainda que seja um avanço, a falta de reagentes específicos disponíveis limita a detecção a nível proteico, sendo possível apenas a caracterização a nível transcricional. Apesar da falta de insumos para utilização de ensaios ELISA para a detecção de citocinas e quimiocinas, diversos estudos utilizam esse tipo de teste para a análise da resposta humoral através da detecção de anticorpos IgM e IgG bem como suas subclasses (CONRAD et al., 2017; DA CUNHA et al., 2019; SAFRONETZ et al., 2009).

Percebe-se então a urgência de desenvolver novas ferramentas e insumos específicos para caracterizar a resposta imunológica completa nos hamsters e conseguir fortalecer seu uso como modelo animal. Visto os crescentes avanços

durante os anos, espera-se que seja possível o desenvolvimento de anticorpos monoclonais para hamster que permitam a detecção de marcadores imunológicos, citocinas e quimiocinas assim desenvolvendo diversos ensaios para a análise da resposta imunológica na espécie (WARNER; SAFRONETZ; KOBINGER, 2017).

6. Conclusão

Apesar de diferentes ferramentas *in vitro* e *in silico* estarem disponíveis, o uso de modelos animais ainda é indispensável na pesquisa científica, permitindo avanços nas mais diversas áreas. Os hamsters sírios dourado tornaram-se modelos valiosos de doenças humanas, entretanto a falta de insumos disponíveis limita algumas análises envolvendo o biomodelo. Assim, o crescente uso do hamster demonstra a necessidade de desenvolver novas ferramentas que consigam avaliar especificamente a resposta imunológica desenvolvida no animal, aumentando ainda mais o seu valor como modelo de estudo de doenças e sua profilaxia.

Referências

- AGGARWAL, A. et al. Animal models of tuberculosis: Lesson learnt. **Journal of dental education**, v. 76, n. 11, p. 1532–9, 2012.
- ANDERSEN, M. L.; WINTER, L. M. F. Animal models in biological and biomedical research – experimental and ethical concerns. **An Acad Bras Cienc**, v. 91, n. 1, p. 1–14, 2017.
- BABCOCK, G. J. et al. Human monoclonal antibodies directed against toxins A and B prevent *Clostridium difficile*-induced mortality in hamsters. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 11, p. 6339–6347, 2006.
- BABUKUMAR, S. et al. Molecular effects of hesperetin, a citrus flavanone on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced buccal pouch squamous cell carcinoma in golden Syrian hamsters. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 123, n. 4, p. 265–278, 2017.
- BARBOSA, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Infectivity and virulence of leptospiral strains of serogroup Sejroe other than Hardjo on experimentally infected hamsters. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1129–1132, 2019.
- BARBOSA DE OLIVEIRA, G. **Estudo do perfil genético de linhagens de camundongos mantidos nos biotérios de criação de duas instituições parceiras na Rede Mineira de Bioterismo**. [s.l.: s.n.].
- BASU, R. et al. Kinetoplastid Membrane Protein-11 DNA Vaccination Induces Complete Protection against Both Pentavalent Antimonial-Sensitive and -Resistant Strains of *Leishmania donovani* That Correlates with Inducible Nitric Oxide Synthase Activity and IL-4 Generation: E. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 11, p. 7160–7171, 2005.
- BEST, E. L.; FREEMAN, J.; WILCOX, M. H. Models for the study of *Clostridium difficile* infection. **Gut Microbes**, v. 3, n. 2, p. 145–167, 2012.
- BOONMARS, T.; BOONJARASPINO, S.; KAEWSAMUT, B. Animal models for *Opisthorchis viverrini* infection. **Parasitology Research**, v. 104, n. 3, p. 701–703, 2009.
- BROCATO, R. L. et al. Protective efficacy of a SARS-CoV-2 DNA vaccine in wild-type and immunosuppressed Syrian hamsters. **npj Vaccines**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2021.
- BRUCKNER, L. European regulatory framework and practices for veterinary *Leptospira* vaccine potency testing. **Biologicals**, v. 41, n. 5, p. 303–304, 2013.
- CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 289–299, 2004.
- CESARINO, J. L., GONTIJO J. A. R., ZAPPAROLI A.R, 2011. AMBIENTE EM BIOTÉRIO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL E A ESPÉCIE *Rattus norvegicus*: REVISÃO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. III, n. 9, p. 25–32, 2011.
- CHAIYADET, S. et al. Vaccination of hamsters with *Opisthorchis viverrini* extracellular vesicles and vesicle-derived recombinant tetraspanins induces antibodies that block

vesicle uptake by cholangiocytes and reduce parasite burden after challenge infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, p. 1–15, 2019.

CHAN, A. J. F. et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. v. 2019, p. 1–50, 2019.

CHESNUT, M. et al. In vitro and in silico Models to Study Mosquito-Borne Flavivirus Neuropathogenesis, Prevention, and Treatment. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, n. July, p. 223, 2019.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: O camundongo. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 11–23, 2007.

CHRISTOPHER, R. et al. Data-driven computer simulation of human cancer cell. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1020, p. 132–153, 2004.

COE, J. E.; SCHELL, R. F.; ROSS, M. J. Immune response in the hamster: definition of a novel IgG not expressed in all hamster strains. **Immunology**, v. 86, n. 1, p. 141–8, 1995.

COLQUITT, R. B.; COLQUHOUN, D. A.; THIELE, R. H. In silico modelling of physiologic systems. **Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology**, v. 25, n. 4, p. 499–510, 2011.

CONRAD, N. L. et al. LigB subunit vaccine confers sterile immunity against challenge in the hamster model of leptospirosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 3, p. 1–20, 2017.

COUTINHO, M. L. et al. A ligA three-domain region protects hamsters from lethal infection by *Leptospira interrogans*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 12, p. 1–10, 2011.

COUTO, S. E. R. Criação e Manejo de cobaias. **Animais de Laboratório: criação e experimentação.**, p. 71–79, 2002.

DA CUNHA, C. E. P. et al. Evaluation of different strategies to promote a protective immune response against leptospirosis using a recombinant LigA and LigB chimera. **Vaccine**, v. 37, n. 13, p. 1844–1852, 2019.

DAS, D. I. A.; MOREIRA, D. **HISTÓRIA NATURAL DA LEISHMANIOSE VISCERAL EM HAMSTER “ *Mesocricetus auratus* ” EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR DUAS CEPAS DE *Leishmania infantum* COM PERFIS DISTINTOS DE VIRULÊNCIA E PATOGENICIDADE.** [s.l: s.n.].

DAVIES, N. L. et al. A mixture of functionally oligoclonal humanized monoclonal antibodies that neutralize *Clostridium difficile* tcdA and tcdB with high levels of in vitro potency shows in vivo protection in a hamster infection model. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 20, n. 3, p. 377–390, 2013.

DE CARVALHO, C. A. et al. Early high avidity specific IgG production in experimental hamster visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 119, n. 11, p. 3881–3885, 2020.

DE OLIVEIRA, C. I. et al. Animal models for infectious diseases caused by parasites:

- Leishmaniasis. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 1, n. 1, p. 81–86, 2004.
- DE WIT, E. et al. The Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (*MERS-CoV*) Does Not Replicate in Syrian Hamsters. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 3–8, 2013.
- DELLAGOSTIN, ODIR, A. et al. Recombinant vaccines against leptospirosis. **Human Vaccines**, v. 7, n. 11, p. 1215–1224, 2011.
- DELLAGOSTIN, O. A. et al. Reverse vaccinology: An approach for identifying leptospiral vaccine candidates. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, 2017.
- DINIZ, J. A. et al. Short report: Highly virulent *Leptospira borgpetersenii* strain characterized in the hamster model. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 2, p. 271–274, 2011.
- DUAN, J. et al. Research status and perspectives for pathogenic spirochete vaccines. **Clinica Chimica Acta**, v. 507, n. February, p. 117–124, 2020.
- EBIHARA, H. et al. A syrian golden hamster model recapitulating ebola hemorrhagic fever. **Journal of Infectious Diseases**, v. 207, n. 2, p. 306–318, 2013.
- EL-BAYOUMY, K. et al. Carcinogenesis of the oral cavity: Environmental causes and potential prevention by black raspberry. **Chemical Research in Toxicology**, v. 30, n. 1, p. 126–144, 2017.
- EVANGELISTA, K. V. et al. Immunoprotective properties of recombinant LigA and LigB in a hamster model of acute leptospirosis. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. 1–21, 2017.
- FEENEY, W. P. The Chinese or Striped-Back Hamster. In: **The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents**. [s.l: s.n.]. p. 907–922.
- FELIX, C. R. et al. An overview of human leptospirosis vaccine design and future perspectives. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 2, p. 179–188, 2020.
- FERNANDES, L. G. V. et al. Immune response and protective profile elicited by a multi-epitope chimeric protein derived from *Leptospira interrogans*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 57, p. 61–69, 2017.
- FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Experimental models in research. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, n. SUPPL. 2, p. 28–34, 2005.
- FONSECA SCHAMBER REIS, B. L. **ENU em camundongos e Mapeamento genético da mutação careca**. [s.l: s.n.].
- FORSTER, K. M. et al. A conserved region of leptospiral immunoglobulin-like A and B proteins as a DNA vaccine elicits a prophylactic immune response against leptospirosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 20, n. 5, p. 725–731, 2013.
- FRAGAKI, K. et al. Immunisation with DNA encoding *Leishmania infantum* protein papLe22 decreases the frequency of parasitemic episodes in infected hamsters. **Vaccine**, v. 19, n. 13–14, p. 1701–1709, 2001.
- GARABALINO, M. A. et al. Electroporation optimizes the uptake of boron-10 by tumor for boron neutron capture therapy (BNCT) mediated by GB-10: a boron biodistribution study in the hamster cheek pouch oral cancer model. **Radiation and Environmental Biophysics**, v. 58, n. 3, p. 455–467, 2019.

- GIMENEZ-CONTI, I. B.; SLAGA, T. J. The Hamster Cheek Pouch Carcinogenesis Model. v. 90, n. 1 993, p. 1–8, 1993.
- GOMES-SILVA, A. et al. Golden hamster (*Mesocricetus auratus*) as an experimental model for *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection. **Parasitology**, v. 140, n. 6, p. 771–779, 2013.
- GOMES-SOLECKI, M.; SANTECCHIA, I.; WERTS, C. Animal models of leptospirosis: Of mice and hamsters. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. FEB, 2017.
- GOULDING, D. et al. Distinctive profiles of infection and pathology in hamsters infected with *Clostridium difficile* strains 630 and B1. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 12, p. 5478–5485, 2009.
- GRASSMANN, A. A. et al. Discovery of novel leptospirosis vaccine candidates using reverse and structural vaccinology. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. APR, 2017.
- GUIMARÃES, M. V.; FREIRE, J. E. DA C.; MENEZES, L. M. B. DE. Utilização de animais em pesquisas: breve revisão da legislação no Brasil. **Revista Bioética**, v. 24, n. 2, p. 217–224, 2016.
- GYSENS, I. C. Animal models for research in human infectious diseases. CMI editorial policy. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 6, p. 649–650, 2019.
- HAAKE, D. Hamster Model of Leptospirosis. **Curr Protoc Microbiol**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2006.
- HAMMERBECK, C. D.; HOOPER, J. W. T Cells Are Not Required for Pathogenesis in the Syrian Hamster Model of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Journal of Virology**, v. 85, n. 19, p. 9929–9944, 2011.
- HANPANICH, P. et al. Decreased risk of cholangiocarcinogenesis. v. 66, n. 4, p. 464–470, 2018.
- HEBER, E. M. et al. Homogeneous boron targeting of heterogeneous tumors for boron neutron capture therapy (BNCT): Chemical analyses in the hamster cheek pouch oral cancer model. **Archives of Oral Biology**, v. 51, n. 10, p. 922–929, 2006.
- HEBER, E. M. et al. Therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy mediated by boron-rich liposomes for oral cancer in the hamster cheek pouch model. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 45, p. 16077–16081, 2014.
- HEIDEBRECHT, H. J. et al. Treatment and prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model. **Toxins**, v. 11, n. 2, 2019.
- HEIDER ALVARENGA DE JESUS. **Revisão Sistemática De Engenharia De Software Experimental in Vitro : Uma Análise Preliminar**. [s.l.: s.n.].
- HOCHMAN, B. et al. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, n. suppl 1, p. 69–78, 2004.
- HUGHES, A. M. et al. Different oral cancer scenarios to personalize targeted therapy: Boron Neutron Capture Therapy translational studies. **Therapeutic Delivery**, v. 10, n. 6, p. 353–362, 2019.

- HUTTON, M. L. et al. Small animal models for the study of *Clostridium difficile* disease pathogenesis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 352, n. 2, p. 140–149, 2014.
- IMAI, M. et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 28, p. 16587–16595, 2020.
- JACINTO-ALEMÁN, L. F. et al. erbB expression changes in ethanol and 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced oral carcinogenesis. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 18, n. 2, p. 325–331, 2013.
- JANITZEK, C. M. et al. The immunogenicity of capsid-like particle vaccines in combination with different adjuvants using different routes of administration. **Vaccines**, v. 9, n. 2, p. 1–14, 2021.
- JEAN-QUARTIER, C. et al. In silico cancer research towards 3R. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2018.
- JR, R. M.; PETRI, W. A. Immune responses to *Clostridium difficile* infection Rajat. **Trends Mol Med.**, v. 18, n. 11, p. 658–666, 2013.
- JULANDER, J. G. et al. Activity of T-1106 in a hamster model of yellow fever virus infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 6, p. 1962–1966, 2007.
- JULANDER, J. G. et al. Treatment of yellow fever virus with an adenovirus-vectored interferon, DEF201, in a hamster model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 5, p. 2067–2073, 2011.
- JULANDER, J. G. et al. BCX4430, a novel nucleoside analog, effectively treats yellow fever in a hamster model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 11, p. 6607–6614, 2014.
- JULANDER, J. G. Animal models of yellow fever and their application in clinical research. **Current Opinion in Virology**, v. 18, p. 64–69, 2016.
- JULANDER, J. G.; TRENT, D. W.; MONATH, T. P. Immune correlates of protection against yellow fever determined by passive immunization and challenge in the hamster model. **Vaccine**, v. 29, n. 35, p. 6008–6016, 2011.
- KARLLA GONÇALVES DE MACEDO , CLEBER CAMILO DE MELO FILHO, C. H. A. Avaliação in Silico Da Toxicidade De Fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 10, n. 1, p. 1–1, 2013.
- KO, G. M.; LUCA, R. R. DE; OLIVEIRA, G. M. DE. Camundongo de Laboratório. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**, n. May, p. 169–199, 2017.
- KREIMANN, E. L. et al. The hamster cheek pouch as a model of oral cancer for boron neutron capture therapy studies: Selective delivery of boron by boronophenylalanine. **Cancer Research**, v. 61, n. 24, p. 8775–8781, 2001.
- KUEHNE, S. A. et al. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. **Nature**, v. 467, n. 7316, p. 711–713, 2010.
- LALANI, A. I.; ZHU, S.; XIE, P. Characterization of thymus-dependent and thymus-independent immunoglobulin isotype responses in mice using enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2018, n. 139, p. 1–10, 2018.

- LEUZZI, R. et al. Protective efficacy induced by recombinant *Clostridium difficile* toxin fragments. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 8, p. 2851–2860, 2013.
- LI, G. et al. Yellow fever virus infection in Syrian golden hamsters: relationship between cytokine expression and pathologic changes. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 1, n. 2, p. 169–79, 2008.
- LVOVA, M. N. et al. Comparative histopathology of *Opisthorchis felineus* and *Opisthorchis viverrini* in a hamster model: An implication of high pathogenicity of the European liver fluke. **Parasitology International**, v. 61, n. 1, p. 167–172, 2012.
- LYERLY, D. M. et al. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. **Infection and Immunity**, v. 47, n. 2, p. 349–352, 1985.
- LYRAS, D. et al. Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. **Nature**, v. 458, n. 7242, p. 1176–1179, 2009.
- MANOHARAN, S. et al. Berberine prevents 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis: A biochemical approach. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 21, n. 2, p. 182–192, 2012.
- MAROZSAN, A. J. et al. Protection against *Clostridium difficile* infection with broadly neutralizing antitoxin monoclonal antibodies. **Journal of Infectious Diseases**, v. 206, n. 5, p. 706–713, 2012.
- MARTÍNEZ, D. A. B. et al. DMBA-Induced Oral Carcinoma in Syrian Hamster: Increased Carcinogenic Effect by Dexamethasone Coexposition. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.
- MATHUR, T. et al. In vitro and in vivo activities of DS-2969b, a novel GyrB inhibitor, against *Clostridium difficile*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 4, p. 1–10, 2018.
- MATSUI, M. et al. Cytokine and chemokine expression in kidneys during chronic leptospirosis in reservoir and susceptible animal models. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1–20, 2016.
- MATSUNAGA, J. et al. Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. v. 1973, n. September, p. 10–14, 2005.
- MCARTHUR, M. A. et al. Molecular Characterization of Hamster-Adapted Yellow Fever Virus. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 20, n. 3, p. 222–227, 2020.
- MCNEES ET AL. SV40 lymphomagenesis in Syrian golden hamsters. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2011.
- MEG M. SLEEPER, LAWRENCE T. BISH, AND H. L. S. A. Gene therapy in large animal models of muscular dystrophy. **ILAR Journal**, v. 50, n. 2, p. 187–198, 2009.
- MELBY, P. C. et al. Cloning of Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) cytokine cDNAs and analysis of cytokine mRNA expression in experimental visceral leishmaniasis. **Infection and Immunity**, v. 66, n. 5, p. 2135–2142, 1998.
- MENDEZ, S. et al. Host cytokine production, lymphoproliferation, and antibody responses during the course of *Ancylostoma ceylanicum* infection in the Golden Syrian hamster. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 6, p. 3402–3407, 2005.

- MIAO, J. et al. Syrian Hamster as an Animal Model for the Study on Infectious Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. October, p. 1–12, 2019.
- MIEDEL, E. L.; HANKENSON, F. C. Chapter 5 - Biology and Diseases of Hamsters. In: **Laboratory Animal Medicine: Third Edition**. [s.l.: s.n.]. p. 209–245.
- MIESEL, L. et al. Kibdelomycin is a potent and selective agent against toxigenic *Clostridium difficile*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 4, p. 2387–2392, 2014.
- MIZIARA, I. D. ET AL. Research ethics in animal models. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 78, p. 128–131, 2012.
- MOHANDAS, S. et al. Immunogenicity and protective efficacy of BBV152, whole virion inactivated SARS- CoV-2 vaccine candidates in the Syrian hamster model. **iScience**, v. 24, n. 2, p. 102054, 2021.
- MOLINARI, A. J. et al. Tumor blood vessel “normalization” improves the therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy (BNCT) in experimental oral cancer. **Radiation Research**, v. 177, n. 1, p. 59–68, 2012.
- MONTEIRO, R. et al. Trends in animal experimentation [Tendências em experimentação animal]. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 24, n. 4, p. 506–513, 2009.
- MORALES, M. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade. **Ciênc. cult. (São Paulo)**, p. 33–36, 2008.
- MORRIS, A. L. Factors Influencing Experimental Carcinogenesis in the Hamster Cheek Pouch. **Journal of Dental Research**, v. 40, n. 1, p. 3–15, 1961.
- MURILLO, J. et al. Verification and monitoring of visceral leishmaniasis in hamsters caused by *Leishmania infantum*, using non-invasive approaches involving ultrasound imaging and blood gases. **Experimental Parasitology**, v. 201, n. April, p. 78–89, 2019.
- NAGINI, S. et al. Of humans and hamsters: A comparative evaluation of carcinogen activation, DNA damage, cell proliferation, apoptosis, invasion, and angiogenesis in oral cancer patients and hamster buccal pouch carcinomas. **Oral Oncology**, v. 45, n. 6, p. e31–e37, 2009.
- OLIVEIRA, P. A.; ANA FAUSTINO, A. F. A história do rato de laboratório: do ódio ao amor. **História da Ciência e Ensino: construindo interfaces**, v. 20, p. 115–125, 2019.
- OLIVEIRA, T. L. et al. Evaluation of the *Leptospira interrogans* outer membrane protein OmpL37 as a vaccine candidate. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1–13, 2015.
- PADILLA-CARLIN, D. J.; MCMURRAY, D. N.; HICKEY, A. J. The guinea pig as a model of infectious diseases. **Comparative Medicine**, v. 58, n. 4, p. 324–340, 2008.
- PAKHARUKOVA ET AL. A study of tribendimidine effects in vitro and in vivo on the liver fluke *Opisthorchis felinus*. **Parasites & Vectors**, v. 194, p. 1–12, 2019.
- PAKHARUKOVA, M. Y. et al. Inhibition of *Opisthorchis felinus* glutathione-dependent prostaglandin synthase by resveratrol correlates with attenuation of cholangiocyte neoplasia in a hamster model of opisthorchiasis. **International Journal for**

Parasitology, v. 49, n. 12, p. 963–973, 2019.

PAKHARUKOVA, M. Y.; PAKHARUKOV, Y. V.; MORDVINOV, V. A. Effects of miconazole/clotrimazole and praziquantel combinations against the liver fluke *Opisthorchis felinus* in vivo and in vitro. **Parasitology Research**, v. 117, n. 7, p. 2327–2331, 2018.

PÉCHINÉ, S. et al. Immunization using GroEL decreases *Clostridium difficile* intestinal colonization. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, 2013.

PÉCHINÉ, S. et al. Targeting *Clostridium difficile* surface components to develop immunotherapeutic strategies against *Clostridium difficile* infection. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 1–11, 2018.

PENA, L. J. et al. In vitro and in vivo models for studying Zika virus biology. **Journal of General Virology**, v. 99, n. 12, p. 1529–1550, 2018.

PERSHINA, A. G. et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy for differential assessment of liver abnormalities induced by *Opisthorchis felinus* in an animal model. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–20, 2017.

PRESCOTT, J. et al. The adaptive immune response does not influence hantavirus disease or persistence in the syrian hamster. **Immunology**, v. 140, n. 2, p. 168–178, 2013.

PRESGRAVE, O. A. F. Alternativas para Animais de Laboratório: do animal ao computador. **Doença de chagas: manual para experimentação animal [online].**, p. 361–367, 2002.

QIU, H. et al. Novel *Clostridium difficile* anti- Toxin (TcdA and TcdB) humanized monoclonal antibodies demonstrate in vitro neutralization across a broad spectrum of clinical strains and in vivo potency in a hamster spore challenge model. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–21, 2016.

RAJA, V. et al. Heterologous DNA prime-protein boost immunization with RecA and FliD offers cross-clade protection against leptospiral infection. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.

RAMANATHAN, K. et al. ACTIVating Resources for the COVID-19 Pandemic: In Vivo Models for Vaccines and Therapeutic. n. January, p. 19–21, 2020.

RÊGO, F. D. et al. Molecular variants of *Leishmania (Viannia) braziliensis* trigger distinct patterns of cytokines and chemokines expression in golden hamster. **Molecular Immunology**, v. 106, n. December 2018, p. 36–45, 2019.

REIMANN, M. M. **INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE HAMSTERS DOURADOS (*Mesocricetus auratus*) POR *Leishmania* spp .: VIAS ORAL E INTRAGÁSTRICA.** [s.l: s.n.].

REIS, A. DOS; DALMOLIN, S. P.; DALLEGRAVE, E. Modelos animais para avaliação auditiva: revisão de literatura. **Revista CEFAC**, v. 19, n. 3, p. 417–428, 2017.

RIBEIRO-ROMÃO, R. P. et al. Comparative evaluation of lesion development, tissue damage, and cytokine expression in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected by inocula with different *Leishmania (Viannia) braziliensis* concentrations. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 12, p. 5203–5213, 2014.

- RIVERA, E. A. B. Ética na experimentação animal. In: **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. [s.l: s.n.]. p. 25–28.
- ROBERTS, A. et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection of Golden Syrian Hamsters. **Journal of Virology**, v. 79, n. 1, p. 503–511, 2005.
- ROSSI, O. et al. The essential role of complement in antibody-mediated resistance to Salmonella. **Immunology**, v. 156, n. 1, p. 69–73, 2019.
- Russell, W. M. S. and Burch, R. L. (1959). The Principles of Humane Experimental Technique.
https://books.google.it/books/about/The_principles_of_humane_experimental_te.html?id=j75qAAAAMAAJ&redir_esc=y
- SACAN, A.; EKINS, S.; KORTAGERE, S. **Applications and limitations of in silico models in drug discovery**. [s.l: s.n.]. v. 910
- SAFRONETZ, D. et al. Adenovirus Vectors Expressing Hantavirus Proteins Protect Hamsters against Lethal Challenge with Andes Virus. **Journal of Virology**, v. 83, n. 14, p. 7285–7295, 2009.
- SAINI, S. et al. Comparison Between Immuno-Clinicopathological Features of Experimental and Human Visceral Leishmaniasis by *Leishmania donovani*. **Acta Parasitologica**, v. 65, n. 1, p. 57–67, 2020.
- SAINI, S.; RAI, A. K. Hamster, a close model for visceral leishmaniasis: Opportunities and challenges. **Parasite Immunology**, v. 42, n. 10, p. 0–2, 2020.
- SALLEY, J. J. EXPERIMENTAL CARCINOGENESIS IN THE CHEEK POUCH OF THE SYRIAN HAMSTER. v. 1954, 1954.
- SANTOS, B. criação e manejo de hamsters. In: **Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]**. [s.l: s.n.]. p. 123–126.
- SANTOS, B. F. Criação e Manejo de Camundongos. In: **Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]**. [s.l: s.n.]. p. 114–118.
- SARKAR, S.; HEISE, M. T. Mouse Models as Resources for Studying Infectious Diseases. **Clinical Therapeutics**, v. 41, n. 10, p. 1912–1922, 2019.
- SATTAR, A. et al. SMT19969 for *Clostridium difficile* infection (CDI): In vivo efficacy compared with fidaxomicin and vancomycin in the hamster model of CDI. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 6, p. 1757–1762, 2014.
- SAYASONE, S. et al. Efficacy and safety of tribendimidine versus praziquantel against *Opisthorchis viverrini* in Laos: an open-label, randomised, non-inferiority, phase 2 trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 2, p. 155–161, 2018.
- SBRANA, E. et al. II. Pathology. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 6, p. 1084–1089, 2006.
- SCHANAIDER, ALBERTO; SILVA, P. C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 11, p. 989–989, 2008.
- SEABRA, D. I. **Refinamento das técnicas de anestesia injetável em hamsters S**. [s.l: s.n.].

- SELVARAJ, P. et al. SARS-CoV-2 infection induces protective immunity and limits transmission in Syrian hamsters. **Life Science Alliance**, v. 4, n. 4, p. e202000886, 2021.
- SHARIF, Y.; IRSHAD, S. Animal models for human genetic diseases. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 86, p. 15200-15205–15205, 2012.
- SIA, S. F. et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters. v. 583, n. 7818, p. 834–838, 2020.
- SILVA, E. et al. CHARACTERIZATION OF VIRULENCE OF *Leptospira* ISOLATES IN A HAMSTER MODEL. **Vaccine**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008.
- SILVA, E. F. ET AL. The terminal portion of leptospiral immunoglobulin-like protein LigA confers protective immunity against lethal infection in the hamster model of leptospirosis. v. 25, n. 33, p. 6277–6286, 2008.
- SONG, Z. et al. SARS-CoV-2 Causes a Systemically Multiple Organs Damages and Dissemination in Hamsters. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. January, p. 1–15, 2021.
- SOUSA, R. A. L. DE et al. Aspectos éticos em animais de laboratório e os principais modelos utilizados em ensaios científicos. **Resbcal**, v. 2, n. 2, p. 147–154, 2013.
- SOUZA, A. DE; FILHO, M.; GURGEL, W. B. ÉTICA, MÉTODO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL: a questão do especismo nas ciências experimentais. v. 18, 2011.
- SRINIVAS, G. B.; WALKER, A.; RIPPKE, B. USDA regulatory guidelines and practices for veterinary *Leptospira* vaccine potency testing. **Biologicals**, v. 41, n. 5, p. 298–302, 2013.
- STOKES, W. et al. Report on the international workshop on alternative methods for *Leptospira* vaccine potency testing: State of the science and the way forward. **Biologicals**, v. 41, n. 5, p. 279–294, 2013.
- TCHITCHEK, N. et al. Sequencing, annotation and analysis of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) transcriptome. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.
- TECHAWIWATTANABOON, T. et al. Reduced renal colonization and enhanced protection by leptospiral factor h binding proteins as a multisubunit vaccine against leptospirosis in hamsters. **Vaccines**, v. 7, n. 3, 2019.
- TESH, R. B. et al. Experimental yellow fever virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). I. Virologic, biochemical, and immunologic studies. **Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 10, p. 1431–1436, 2001.
- TIAN, J. H. et al. A novel fusion protein containing the receptor binding domains of *C. difficile* toxin A and toxin B elicits protective immunity against lethal toxin and spore challenge in preclinical efficacy models. **Vaccine**, v. 30, n. 28, p. 4249–4258, 2012.
- TOSTANOSKI, L. H. et al. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. **Nature Medicine**, v. 26, n. 11, p. 1694–1700, 2020.
- TRIVILLIN, V. A. et al. Therapeutic success of boron neutron capture therapy (BNCT) mediated by a chemically non-selective boron agent in an experimental model of oral cancer: A new paradigm in BNCT radiobiology. **Radiation Research**, v. 166, n. 2, p. 387–396, 2006.

- TRZASKO, A. et al. Efficacy of LFF571 in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 8, p. 4459–4462, 2012.
- VAIRAKTARIS, E. et al. The hamster model of sequential oral oncogenesis. **Oral Oncology**, v. 44, n. 4, p. 315–324, 2008.
- VALENTINE, H. et al. **The Experimental Use of Syrian Hamsters**. First Edit ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2012.
- VAN SOOM, A. et al. Modeling the interaction of gametes and embryos with the maternal genital tract: From in vivo to in silico. **Theriogenology**, v. 73, n. 6, p. 828–837, 2010.
- VERNEL-PAUILLAC, F.; MERIEN, F. Proinflammatory and immunomodulatory cytokine mRNA time course profiles in hamsters infected with a virulent variant of *Leptospira interrogans*. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 7, p. 4172–4179, 2006.
- VERNEL-PAUILLAC, F. R.; GOARANT, C. Differential cytokine gene expression according to outcome in a hamster model of leptospirosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, 2010.
- VICTAL, J. C. et al. Métodos alternativos in vitro e in silico: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, p. 37–57, 2014.
- VIDYA PRIYADARSINI ET AL. Aberrant activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway contributes to the sequential progression of DMBA-induced HBP carcinomas. **Oral Oncology**, v. 48, n. 1, p. 33–39, 2012.
- WAHL-JENSEN, V. et al. Use of the syrian hamster as a new model of ebola virus disease and other viral hemorrhagic fevers. **Viruses**, v. 4, n. 12, p. 3754–3784, 2012.
- WALKER, A. et al. Re-evaluating the LD50 requirements in the codified potency testing of veterinary vaccines containing *Leptospira* (L.) serogroup Icterohaemorrhagiae and L. serogroup Canicola in the United States. **Biologicals**, v. 56, n. September 2016, p. 13–18, 2018.
- WALKER, A.; SRINIVAS, G. B. Opportunities and strategies to further reduce animal use for *Leptospira* vaccine potency testing. **Biologicals**, v. 41, n. 5, p. 332–337, 2013.
- WANG, H. et al. A chimeric toxin vaccine protects against primary and recurrent *Clostridium difficile* infection. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 8, p. 2678–2688, 2012.
- WARNER, B. M.; SAFRONETZ, D.; KOBINGER, G. P. Syrian hamsters as a small animal model for emerging infectious diseases: Advances in immunologic methods. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 972, p. 87–101, 2017.
- WONGRATANACHEEWIN, S.; SERMSWAN, R. W.; SIRISINHA, S. Immunology and molecular biology of *Opisthorchis viverrini* infection. **Acta Tropica**, v. 88, n. 3, p. 195–207, 2003.
- YAPIJAKIS, C. et al. The hamster model of sequential oral carcinogenesis: An update. **In Vivo**, v. 33, n. 6, p. 1751–1755, 2019.
- YE, Z. et al. Beneficial effect of combinational methylprednisolone and remdesivir in hamster model of SARS-CoV-2 infection. v. 10, 2021.

ZIVCEC, M. et al. Validation of assays to monitor immune responses in the Syrian golden hamster (*Mesocricetus auratus*). **Journal of Immunological Methods**, v. 368, n. 1–2, p. 24–35, 2011.