

Infecciones respiratorias asociadas a *Mycoplasma pulmonis* y *Cilia-Associated Respiratory Bacillus* en ratas de laboratorio: diagnóstico e importancia de la enfermedad.

Sacco, S.C.^{1,2}; Belotti, E.M.^{1,2}; Notaro, U.¹; Pautasso, C.¹; Bertona, J.¹; Salinas, F.; Canal, A.M.²; Rey, F.¹; Salvetti, N.¹; Ortega, H.H.¹.

1-Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 2-Cátedra Patología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias del Litoral, Universidad Nacional del Litoral (UNL), Esperanza, Santa Fe, Argentina. ssacco@fcv.unl.edu.ar

Mycoplasma pulmonis es una bacteria gram negativa, carente de pared celular y agente causal de la Micoplasmosis Respiratoria Murina (MRM). El *Cilia-Associated Respiratory Bacillus* (CARB) es una bacteria gram negativa, filamentosa y argiofílica. Ambos son patógenos primarios del aparato respiratorio de ratas y se los ha asociado a Enfermedad Respiratoria Crónica (CRD) que afecta diferentes especies de roedores. Aunque la CRD es a menudo el resultado de la co-infección de CARB y *M. pulmonis*, cada uno de estos agentes puede encontrarse en infecciones individuales, resultando en enfermedades similares³. Los animales destinados a fines experimentales deben tener un estado sanitario apropiado, y los requisitos para asegurar la calidad de estos estudios se encuentran establecidos internacionalmente. *M. pulmonis* es un importante patógeno respiratorio de ratas de laboratorio, es transmitido verticalmente y por aerosoles¹. A nivel mundial, este patógeno produce pérdidas millonarias tanto en la industria farmacéutica como en los centros de investigación⁴. CARB es transmitido por contacto directo, usualmente durante el periodo neonatal. Las poblaciones de roedores pueden ser rutinariamente monitoreadas por *Mycoplasma* y CARB mediante serología (ELISA, MFIATM o IFA). Los hallazgos clínicos y las lesiones histológicas pueden ayudar en diagnósticos de Micoplasmosis avanzadas; sin embargo, el cultivo y PCR son los métodos de elección para detectar infecciones tempranas. Se utiliza PCR y/o histopatología para detectar CARB en animales con enfermedad clínica. El diagnóstico definitivo de CARB puede realizarse mediante la observación de las lesiones histopatológicas características y la coloración con una tinción de plata del epitelio respiratorio para demostrar la presencia de la bacteria entre las cilias. El objetivo de este trabajo es describir las lesiones anatomopatológicas frecuentemente asociadas a *M. pulmonis* y CARB, y destacar la importancia de su diagnóstico y control en las colonias de ratas destinadas a experimentación.

Se emplearon 3 ratas, Wistar CMedC, del área de producción del Centro de Medicina Comparada del ICiVet Litoral. Dos animales (A1 y A2), machos, de 45 días de edad, no presentaban signos clínicos de enfermedad; el tercer animal (A3), macho, de 15 meses de edad, presentaba un cuadro respiratorio crónico con disnea, anorexia, pérdida de peso, pelo hirsuto y pérdida de condición corporal. Se realizó la necropsia y se tomaron muestras de las lesiones pulmonares para diagnóstico histopatológico, las mismas fueron fijadas en formol bufferado 10%, procesadas mediante técnicas de inclusión en parafina y coloreadas con hematoxilina-eosina. El diagnóstico clínico y anatomopatológico fue realizado por Médicos Veterinarios capacitados especialmente en sanidad y patología de animales de laboratorio. Se realizó la tinción argéntica de Levaditi como técnica complementaria para el diagnóstico.

Macroscópicamente en A1 y A2 se observaron lesiones focalmente extensas, de diferentes tamaños que tendían a coalescer, de distribución asimétrica cráneo-ventral, blanco amarillentas, que representan bronquiolos dilatados con exudado muco-purulento y abscedación. En el animal A3, al realizar la apertura de la cavidad torácica, el pulmón no colapso, y se observaron lesiones similares, pero de mayor severidad, de distribución difusa y con marcada bronquiectasia multifocal, áreas de

atelectasia, hemorragia y fibrosis difusa; y abundante exudado supurativo y mucoso al corte y ocupando los espacios aéreos en tráquea y bronquios. El diagnóstico morfológico fue bronconeumonía supurativa multifocal a coalescente, crónica, severa, con bronquiectasia y bronquioloectasia. Las lesiones microscópicas correspondían con una bronconeumonía supurativa multifocal, severa, con *cuffing* peribronquial y peribronquiolar de linfocitos y plasmocitos. En los animales A1 y A2, multifocalmente se observan infiltrados leucocitarios mixtos con predominio de neutrófilos, algunos degenerados, numerosos macrófagos activados y un material homogéneo fibrilar levemente basófilo en lúmenes alveolares. Hiperplasia de células caliciformes y epitelio bronquiolar en algunas zonas, con atenuación, necrosis y desciliación en otras. Se observaron bacilos, basófilos, de aproximadamente $0.5 \times 8 \mu\text{m}$ entre los cilios y el exudado de fibrina y neutrófilos en el lumen de un bronquiolo. En el A3 se observaron lesiones similares, más severas, con bronquiólos distendidos con exudado de polimorfonucleares neutrófilos, muchos degenerados y con marcada atenuación del epitelio. Severa proliferación de tejido conjuntivo intersticial con numerosos infiltrados leucocitarios mixtos de linfocitos, plasmocitos y macrófagos, severa hiperemia y hemorragias multifocales. Estos hallazgos fueron compatibles con la presencia de *M. pulmonis* o CARB.

Las co-infecciones por estos agentes son muy comunes y las lesiones asociadas a estos patógenos son muy similares e histológicamente indistinguibles. Se ha descrito que la prevalencia de MRM varía de un 20% a 60% en colonias con barreras de bioseguridad y está cerca del 100% en colonias convencionales². En Argentina no existen datos publicados respecto a la prevalencia y medidas de control de estos agentes en los bioterios de ratas destinadas a experimentación. Según la información publicada por el laboratorio internacional "Charles River" *M. pulmonis* podría tener una potencial interferencia con una amplia variedad de estudios, y los animales con signos de CRD por CARB generalmente no se encuentran en buena forma para su uso en investigación. Por lo tanto, el rápido y eficiente diagnóstico de la presencia de estos patógenos en las colonias de animales destinados a experimentación es esencial para garantizar la calidad de los resultados de los estudios experimentales. Cabe destacar la importancia de la presencia de Médicos Veterinarios capacitados y especializados en trabajo con animales de laboratorio, como un pilar esencial para el control de estas y otras enfermedades que puedan afectar las colonias.

Bibliografía

- 1- Baker DG. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin Microbiol Rev.* 1(2):231–266.
- 2-Barreto ML1, do Nascimento ER, de Martino Campos CA, Fichel do Nascimento MG, Lignon GB, Flores Lira ML, Silva RG. 2002. Detection of *Mycoplasma pulmonis* in laboratory rats. *Brazilian Journal of Microbiology* (2002) 33:260-264.
- 3-Barthold SW, Griffey SM, Percy DH. 2016. Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits. Fourth Edition. WILEY Blackwell. 133-136.
- 4-Milocco S, Carriquiriborde M, Laborde J, Ayala M, Cagliada M, Carbone C. 2009. Estudio de la interferencia causada por *Mycoplasma pulmonis* en ratones de la cepa N:NIH (S)-Fox1nu transplantada con la línea tumoral humana A549. *Analecta Veterinaria.* 29 (2): 16-18.