

# **MICROBIOLOGIA, ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS DETECCIÓN DEL VIRUS DIMINUTO DEL RATÓN UTILIZANDO LAS TECNICAS DE NESTED-PCR E INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA, A PARTIR DE HECES Y ÓRGANOS DE RATONES DE LABORATORIO**

**Laborde JM<sup>1</sup>; Galosi CM<sup>2,3</sup>; Carbone C<sup>1</sup>**

**Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE)<sup>1</sup> y <sup>2</sup>Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, Calle 60 y 118, 1900 La Plata, Bs. As, Argentina.**

**<sup>3</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia. Bs. As.**

***juanmartinlaborde@gmail.com***

**INTRODUCCIÓN:** La presencia de agentes infecciosos en colonias de animales de laboratorio representa un serio problema en las investigaciones biomédicas porque puede modificar los parámetros fisiológicos y producir alteraciones significativas en los resultados experimentales. Entre los virus murinos de mayor prevalencia en colonias de ratones se encuentra el Virus Diminuto del Ratón (MVMp) perteneciente a la *Familia Parvoviridae*. Como todos los parvovirus, la dependencia de la replicación del MVMp por funciones moduladas por la proliferación, diferenciación y transformación celular indica que el virus requiere de células en división para replicarse. La misma se produce en diversos órganos como el páncreas, intestino delgado, órganos linfoides, hígado y riñones. Este virus se elimina y transmite a través de las heces y la orina, donde puede persistir durante varias semanas. El virus ingresa por vía oronasal para luego diseminarse. La signología clínica difiere según sean animales inmunocompetentes o inmunodeficientes. En general los primeros no manifiestan la enfermedad clínica a menos que estén sometidos a un estrés, mientras que en los segundos es frecuente observar alteraciones anatomopatológicas y en el comportamiento. . El presente estudio fue realizado con las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación.

**OBJETIVO:** Determinar la presencia del MMV en ratones inoculados experimentalmente, utilizando las técnicas de nested-PCR para detección de ADN viral y de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de anticuerpos (Ac), durante un período de tiempo controlado de 3 meses, a fin de evaluar la eficiencia de las técnicas de control sanitario utilizadas en ratones.

**MATERIALES Y METODOS:** Se analizaron 22 muestras de un pool de heces, 12 sueros y bazos de 12 ratones balb/c inoculados por vía oral con MVMp en una sola dosis. Se utilizó la técnica de IFI y nested-PCR.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN:** El ADN viral fue detectado en heces y bazo a los 3 días pi y los Ac se detectaron a los 20 días pi. A las 9 semanas pi todas las muestras fueron negativas por n-PCR mientras que por IFI fueron positivas hasta el fin de la experiencia. Se concluyó que la investigación de MVMp por n-PCR es confiable solo cuando los animales controlados de una colonia infectada tienen hasta 9 semanas de edad mientras que por IFI es posible detectar la actividad viral durante un lapso de tiempo mayor. La utilización de dos técnicas de diagnóstico complementarias permite

optimizar la precisión de los resultados cuando se realiza un control sanitario en ratones de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA:

BAKER, D.G. Natural pathogens of laboratory mice, rats and rabbits and their effect on research. *Clin. Microbiol. Rev.* 11(2): 231-266, 1998.

BROWNSTEIN, D. G., A. L. SMITH, E. A. JOHNSON, D. G. PINTEL, L. K. NAEGER , AND P. TATTERSALL. The pathogenesis of infection with Minute Virus of Mice depends on the expression of the small nonstructural protein NS2 and on the genotype of the allotropic determinants VP1 and VP2. *J. Virol.* 66:31 18-3124, 1992

COLLINS, M. J., AND PARKER, J. C. Murine virus contaminants of leukemia viruses and transplantable tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 49:1 139-1 143, 1972.

HANSEN, A.K. Health status and the effects of microbial organisms on animal experiments. In SVENDSEN, P., HAN, J. *Handbook of laboratory animal science. Vol I: Selection and Handling of animals in biomedical research*, CRC Press, Cap 11, p. 125-153, 1994.

HSU, C.K., NEW, A.E., MAYO, J.G. Quality assurance of rodent models. In: SPIEGEL, A., ERICHSEN, S., SOLLEVELD, H.A. (Eds.). *Animal Quality and Models in Biomedical Research*, 7<sup>th</sup> ICLAS Symposium Utrecht, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, New York, 1979.

JAKOBY, R.O., LINDSEY, J.

R. Health care for research animals is essential and affordable. *The FASEB J.*11: 609-614, 1997

KRAFT, V., MEYER, B. Seromonitoring in small laboratory animal colonies. A five year survey: 1984-1988. *Z. Versuchstierkd* 33: 29-35, 1990.

NICKLAS, W., HOMBERGER, F.R., ILLGEN-WILCKLE, B., JACOBY, K., KRAFT, V., KUNSTYR, I., MAHLER, M., MEYER, H., POHLMAYER-ESCH, G. Implications of infectious agents on results of animal experiments. Report of the Working Group on

Hygiene of the Gesellschaft für Versuchstierkunde-Society for Laboratory Animal Science. Laboratory Animals 33 (supplement 1), Laboratory Animal Health Monitoring, 1999.

PARKER, J. C., M. J. COLLINS, S. S. CROSS, AND W. P. ROWE. Minute Virus of Mice. II, 1970.

REHBINDER, C. Health monitoring. In: SVENDSEN, P., HAU, J. (Eds.). Handbook of laboratory animal science: Selection and handling of animals in biomedical research. Boca Raton, Florida. CRC Press, Inc., VolII, p. 155-167, 1994.