

## Micoplasmose Murina: uma Ameaça para Roedores

Maria da Graça Fichel do Nascimento<sup>1</sup>  
Maria Lúcia Barreto<sup>2</sup>  
Elmiro Rosendo do Nascimento<sup>3</sup>  
Carlos Augusto de Martino Campos<sup>4</sup>  
Gilberto Brasil Lignon<sup>5</sup>

Os roedores são importante fonte de apoio e suporte para a pesquisa, sendo usados como modelo para o estudo de várias doenças, incluindo estudos de câncer, além de estudos de transplantes e outros, contribuindo para o desenvolvimento de várias áreas biomédicas (Farmacologia, Toxicologia, Virologia, Imunologia, etc.).

Poucas doenças de animais de laboratório têm sido consideradas como verdadeiras ameaças para os pesquisadores ou tão enigmáticas para os microbiologistas como a Doença Respiratória Crônica Murina, também conhecida como Micoplasmose Murina, ou Micoplasmose Respiratória Murina – MRM, cujo termo é, definitivamente, o mais usado. A presença da MRM na maioria dos biotérios com criações de ratos e camundongos tem tornado a eliminação desse problema, para alguns pesquisadores, impraticável ou até mesmo impossível (Cassel, 1982).

Os ratos (*Rattus norvegicus*) são, convencionalmente, os roedores mais usados em modelo animal para experimentos, em diferentes áreas. É essencial para a obtenção de informações corretas, precisas e reproduzíveis, que os animais de experimentos sejam livres de patógenos “indígenos”, caso

contrário, a morbidade e mortalidade resultantes de agentes infecciosos podem afetar drasticamente os resultados das pesquisas. Essa ameaça torna-se mais sutil, porém de igual gravidade, quando a infecção micoplásmica é subclínica, podendo afetar a validade das informações da pesquisa, sem que o pesquisador, não conhecedor do assunto, sequer tome conhecimento da presença do agente infeccioso (Davidson et al., 1994). Mesmo na sua forma clínica, os sintomas não são específicos da micoplasmose, mas sugestivos e, em ratos, são geralmente caracterizados por espirros frequentes, secreções nasais e oculares, dispnéia e baixa fertilidade, assim como, em estágios mais avançados, os animais podem apresentar torcicolo e em presença de comprometimento do(s) ouvido(s) ocorre labirintite, cujo sintoma clássico corresponde a rodopios rápidos do animal ao redor da sua cauda, quando suspenso pela mesma (Lindsey et al., 1971; Barreto, 1998).

As espécies de *Mycoplasmas* consideradas patogênicas, isoladas de ratos e camundongos, são: *Mycoplasma pulmonis* (*M. pulmonis*), *M. arthritidis*, *M. neurolyticum*, *M. collis*, *M. muris* e a cepa KE2 (Davidson et al., 1994). O *M. pulmonis* é o mais importante micoplasma, encontra-

<sup>1</sup> Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: graca@ctaa.embrapa.br

<sup>2</sup> Méd. Vet., MSc., Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista, s/no, CEP 24210-000, Niterói, RJ.

<sup>3</sup> Méd. Vet., Ph.D., Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil, 64, CEP 24230-340, Niterói, RJ.

<sup>4</sup> Méd. Vet., MSc., Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista, s/no, CEP 24210-000, Niterói, RJ.

<sup>5</sup> Méd. Vet., Dr., Embrapa Agrobiologia, Km 47 Antiga Rod. Rio-São Paulo, CEP 23890-000, Seropédica, RJ.

do em ratos e camundongos, por ser o agente etiológico da MRM e da micoplasmose genital desses roedores, responsável pelas patologias respiratórias e problemas reprodutivos (Cassel et al., 1981; Barreto et al., 1996; Nascimento et al., 1997).

Nos Estados Unidos, estima-se que a prevalência de *M. pulmonis* em colônias de ratos e camundongos seja de 17% para ratos e 19% para camundongos. Porém a verdadeira prevalência é, provavelmente, pelo menos 5 a 10% maior (Davidson et al., 1994).

No Brasil, o isolamento de *Mycoplasma* spp. de camundongos de biotério, com problemas de artrite e pneumonia, foi realizado em São Paulo, na década de 80 (Rossini et al., 1983). Somente nos anos 90, o *M. pulmonis* foi isolado e identificado, de ratos e camundongos, do mesmo biotério anteriormente citado (Timenesky et al., 1992). No Rio de Janeiro, isolou-se pela primeira vez o *M. pulmonis* de ratos de biotério, de uma criação convencional, em 1996 (Barreto et al., 1996), expandindo-se sua detecção, por isolamento, para dois e três biotérios, respectivamente (Nascimento et al., 1997; Nascimento et al., 1998).

Esse trabalho teve como objetivo divulgar a presença de *M. pulmonis*, detectada em ratos de dois importantes biotérios, no Estado do Rio de Janeiro para alertar os pesquisadores para a importância da micoplasmose em animais de experimento e a ameaça que ela representa para a pesquisa.

## Material e Métodos

Dezesseis ratos, 10 fêmeas e seis machos, da linhagem *Wistar-Furth*, de biotério convencional, com barreira sanitária, e 12 ratos (todas fêmeas) da linhagem *Hood Lister*, de biotério convencional, foram sacrificados, necropsiados e espécimes foram coletadas para o isolamento e identificação de *Mycoplasma* (Barreto, 1998). Os animais, dos dois biotérios, foram selecionados por apresentarem sintomas respiratórios, compatíveis com Micoplasmose. Foram cultivados fragmentos de tecidos (pulmão, traquéia, ovários, útero) e utilizou-se lavagem dos condutos auditivos e "swabs" orofaríngeos, para o isolamento e cultivo de micoplasmas, de acordo com metodologia padrão (Freundt, 1983). Adicionalmente, desenvolveu-se e padronizou-se o teste sorológico de ELISA para duas espécies de *Mycoplasmas*: *M. pulmonis* e *M. arthritidis* (Campos et al., 2000).

## Resultados e Discussão

O isolamento do *Mycoplasma pulmonis* das diferentes espécimes cultivadas, de 13 dos 16 (81,25%) ratos de biotério com barreira sanitária e de três dos 12 (25,0%) ratos do biotério convencional (Nascimento et al., 1997), justifica um alerta para a ameaça que a MRM representa aos roedores e à pesquisa que envolva experimento com animais de

biotério. As colônias típicas de micoplasmas foram isoladas, caracterizadas bioquimicamente e confirmadas pela coloração de Dienes. Os isolados foram tipificados e classificados, conforme metodologia padrão, por imunofluorescência indireta (Razin, 1983), como *M. pulmonis*.

Muito embora não tenham sido isolados *Mycoplasma pulmonis* de todos os ratos examinados, considera-se que a presença do agente da MRM em pelo menos um animal, seja suficiente para se considerar o biotério de origem como "positivo", pois sabe-se que além das dificuldades de cultivo existentes (vários fatores podem interferir no crescimento dos micoplasmas), a MRM pode apresentar-se também sem sintomatologia, ou seja, doença na forma subclínica (Davidson et al., 1994).

Recomenda-se um acompanhamento dos animais, tanto sob o aspecto clínico, pela visualização de sintomas, quanto subclínico, por meio de cultivo e isolamento e testes sorológicos específicos, como ELISA, recentemente desenvolvido para *Mycoplasma pulmonis* e *Mycoplasma arthritidis* (Campos et al., 2000), como medidas profiláticas e/ou preventivas para as micoplasmoses. O teste de ELISA, realizado com o soro desses mesmos ratos, pode ser recomendado como ferramenta de diagnóstico, pois foi mais eficaz e apresentou maior sensibilidade que a técnica de cultivo e isolamento, uma vez que se obteve um maior número de animais positivos (Campos et al., 2000). Porém, primeiro deve-se fazer o isolamento, como foi feito, e classificar o *Mycoplasma* quanto à espécie, para então adotar ambos testes, isolamento e ELISA, que usa antisoro padrão espécie específico, combinados, para detecção dos animais reagentes positivos e eliminação imediata dos reagentes positivos.

Os sintomas respiratórios e a baixa produtividade foram os sinais mais observados nos ratos desses dois biotérios. A importância desse diagnóstico de MRM reside no fato que ratos de biotério deveriam ser livres de patógenos, por servirem como apoio e suporte às pesquisas biomédicas. A utilização de ratos não saudáveis em modelos experimentais induz a resultados não confiáveis, levando a um comprometimento da qualidade da pesquisa.

Uma vez detectada a presença de *M. pulmonis* em animais de biotério, considerado como o mais patogênico para a espécie, faz-se necessário fazer um monitoramento constante, visando detectar e eliminar animais positivos, com a doença subclínica, com a finalidade de promover a qualidade da pesquisa, com resultados seguros e confiáveis, tendo em vista a necessidade crescente do uso destes animais, principalmente na Segurança de Alimentos, onde são testados principalmente aditivos de diversas origens, além da atual necessidade de se testar em modelo animal, os alimentos transgênicos que estão sendo produzidos.

## Conclusões

A micoplasmose murina (MRM) está presente nas criações de ratos, mesmo em biotério com barreiras sanitárias e, conseqüentemente, faz-se necessário um monitoramento constante da criação.

Há necessidade do envolvimento de pesquisadores com especialização e conhecimento de diagnóstico de micoplasmose, em experimentos que façam uso de animais de biotério, para garantir a qualidade das informações necessárias à pesquisa.

## Referências Bibliográficas

BARRETO, M.L. **Diagnóstico etiológico e caracterização das lesões por *M. pulmonis* em *Rattus norvegicus* de biotérios.** 1998. 89f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.

BARRETO, M.L.; NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F.; CAMPOS, C.A.M.; LIGNON, G.B. Isolamento de *Mycoplasma pulmonis* em uma colônia de ratos Hood Lister, Niterói, RJ. In: WORLD CONGRESS ON LABORATORY ANIMAL SCIENCE, 2. - CONGRESSO BRASILEIRO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO, 5., 1996, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1996. p. 158, ref. P.F15.

CAMPOS, C.A.M.; NASCIMENTO, E.R.; BARRETO, M.L.; NASCIMENTO, M.G.F.; VERÍSSIMO, M.A. ELISA para o diagnóstico das infecções por *Mycoplasma pulmonis* e *Mycoplasma arthritidis* em *Rattus norvegicus* de biotério. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 207-210, 2000.

CASSEL, G.H. The pathogenic potential of mycoplasmas: *Mycoplasma pulmonis* as a model. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, v. 4, p. 18-34, 1982.

CASSEL, G.H.; LINDSEY, J.R.; DAVIS, J.K. Respiratory and genital mycoplasmosis of laboratory rodents: implications for biomedical research. **Israel Journal of Medical Science**, Tel Aviv, v. 17, p. 548-554, 1981.

DAVIDSON, M.K.; DAVIS, J.K.; GAMBILL, G.P.; CASSELL, G.H.; LINDSEY, J.R. Mycoplasmas of laboratory rodents. In: WHIFORD, H.W.; ROSENBUSCH, R.F.; LAUERMAN, L.H. **Mycoplasmosis in animals: laboratory diagnosis.** Ames: Iowa State University Press, 1994. p. 39-50.

FREUNDT, E.A. Culture media for classical mycoplasmas. In: RAZIN, S.; TULLY, J.G. **Methods in Mycoplasmaology: mycoplasma characterization.** New York: Academic Press, 1983, v. 1, p. 126-146.

LINDSEY, J.R.; BAKER, H.J.; OVERCASH, R.G.; CASSEL, G.H.; HUNT, C.E. Murine chronic respiratory disease. Significance as a research complication and experimental production with *Mycoplasma pulmonis*. **American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 64, p. 675-716, 1971.

NASCIMENTO, E.R.; BARRETO, C.A.M.; CAMPOS, C.A.; NASCIMENTO, M.G.F.; LIGNON, G.B. Isolamento de *Mycoplasma pulmonis* de ratos (*Rattus norvegicus*) de dois biotérios do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997. p. 117, ref. MV-028.

NASCIMENTO, E.R.; BARRETO, C.A.M.; NASCIMENTO, M.G.F.; DANELLI, M.G.M. ELISA serologic survey of *Mycoplasma pulmonis* in rats (*Rattus norvegicus*) from three rodent facilities in Rio de Janeiro, Brazil. In: INTERNATIONAL ORGANIZATION OF MYCOPLASMOLOGY CONFERENCE, 12., 1998, Sydney, Australia. **Resumos...** Sydney: Australian Society of Microbiology, 1998. p. 57, ref. B.02.

ROSSINI, A.J.; NIKITIN, T.; FUCHS, H. Isolamento de *Mycoplasma* sp. de *Rattus* sp. acometidos de pneumonia: doença natural. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA, 6. – CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1983, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1983. p. 57.

TIMENESKY, J.; SUMMA, M.E.L.; LUCCA, R.R. *Mycoplasma pulmonis* and *Mycoplasma arthritidis* in rodents from animal houses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 45-50, 1992.

### Comunicado Técnico, 44

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria de Alimentos**  
Endereço: Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba  
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ  
Fone: (0XX21) 2410-7400  
Fax: (0XX21) 2410-1090 / 2410-7498  
E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

1ª edição  
1ª impressão (2001): 50 exemplos

### Comitê de publicações

**Presidente:** Esdras Sundfeld.  
**Executivo. Membros:** Maria Ruth Martins Leão, Neide Botrel Gonçalves, Regina Celi Araújo Lago, Renata Torrezan, Virginia Martins da Matta.

### Expediente

**Supervisor editorial:** Maria Ruth Martins Leão.  
**Editoração eletrônica:** Senai Artes Gráficas.