

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**



MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

TEMA:

**“ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LESIONES “BACKGROUND” EN
HÍGADO, BAZO, RIÑÓN, CORAZÓN Y PULMÓN DE RATONES DE
LABORATORIO DE DOS BIOTERIOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA.”**

**TRABAJO FINAL INTEGRADOR PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER
EN CIENCIAS VETERINARIAS.**

Autora: Médica Veterinaria Carolina Guadalupe Panzani.

Esperanza, Santa Fe. Argentina

2025

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**TRABAJO FINAL INTEGRADOR PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER
EN CIENCIAS VETERINARIAS.**

**“ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LESIONES “BACKGROUND” EN
HÍGADO, BAZO, RIÑÓN, CORAZÓN Y PULMÓN DE RATONES DE
LABORATORIO DE DOS BIOTERIOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA.”**

DIRECTORA: Dra. Sacco Sofía Clara.

CO-DIRECTORA: Dra. Matiller Valentina.

TRIBUNAL EVALUADOR DEL PLAN DE TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Titulares: Dr. Juan Francisco Micheloud (FCV - UCASAL)

Dra. María del Rocío Marini (FCV - UNL)

Dra. Ana María Canal (FCV - UNL)

Suplentes:

Dra. Adriana Silvia Rosciani (FCV - UNNE)

Mgter. Paula Karina Rejf (FCV -UNL)

Esperanza, Santa Fe. Argentina

2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a las personas que amo y me acompañan

A mi Mamá y a mi hermano.

A Diego, por tomarme de la mano y transitar juntos el camino de la vida.

A Bruno, el amor de mi vida...

AGRADECIMIENTOS

A mi Mamá, por darme la vida, ser ejemplo de voluntad y fortaleza.

A Leandro por el apoyo incondicional en cada uno de mis pasos.

A Diego, por su amor y contención en los momentos difíciles y hacerme feliz cada día.

A mis directoras Sofía y Valentina... por su infinita paciencia y dedicación para alcanzar las metas propuestas.

Al Dr. Hugo Ortega por su colaboración en las etapas finales de este trabajo.

A todos los compañeros de la Maestría por hacer más ameno cada encuentro.

A los compañeros y amigos del Centro de Medicina Comparada, por los lindos momentos compartidos día a día dentro y fuera del centro.

Gracias a todos los docentes y alumnos del área de histopatología del Centro de Medicina Comparada por colaborar con la obtención de datos para la realización de este trabajo final de maestría.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias por contribuir a mi formación profesional.

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

CARB: *Cilia Associated Respiratory Bacillus*.

HEM: Hematopoyesis extramedular.

N: Número.

NTP: National Toxicology Program.

POEs: Procedimientos operativos estandarizados

S.L.A: Sin lesiones aparentes

S.P.F.: Specified-pathogen free.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCION.....	1
I.1. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	5
I.1.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
I.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
I.1.3. HIPÓTESIS.....	5
II. MARCO TEÓRICO Y METODOLÓGICO.....	6
II.1. MARCO TEÓRICO.....	6
II.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
II.2.1. Origen de los animales.....	9
II.2.1.1. Bioterio A: características	9
II.2.1.2. Bioterio B: características.....	10
II.2.2. Control sanitario.....	10
II.2.3. Necropsia y obtención de muestras.....	11
II.2.4. Procesamiento de muestras.....	11
II.2.5. Análisis histopatológico.....	13
II.2.6. Análisis estadístico.....	13
III. RESULTADOS.....	14
III.1. Identificación y registro de pesos.....	14
III.2. Hallazgos macroscópicos y microscópicos de lesiones en órganos.....	16
III.2.1. Hígado.....	16
III. 2.2. Riñón.....	18
III. 2.3. Bazo	20
III. 2.4. Pulmón.....	22
III. 2.5. Corazón	24
IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	27
V. BIBLIOGRAFÍA.....	31
VI. ANEXO	38

RESUMEN

La experimentación en animales es un componente esencial de la investigación biomédica y representa una parte fundamental de los esfuerzos para desarrollar nuevos tratamientos para una amplia gama de enfermedades. Los animales de laboratorio son para el investigador un reactivo biológico, por lo que su estado sanitario debe ser vigilado y controlado. Las lesiones “background” o de fondo son hallazgos patológicos que generalmente se consideran un cambio en la morfología del tejido fuera del rango de variación normal para una especie o cepa particular. El conocimiento de estos cambios en los órganos de animales de experimentación es fundamental, ya que estos pueden ser confundidos con las lesiones inducidas por fármaco o bien exacerbadas por los tratamientos durante estudios experimentales. El objetivo de este trabajo fue analizar retrospectivamente la presentación de lesiones “background” en hígado, riñón, bazo, pulmón y corazón de 31 ratones sanos, de 3 cepas diferentes (CF1, C57BL/6, CD1) y de ambos sexos, provenientes de dos bioterios de la República Argentina. Los resultados obtenidos a partir de las necropsias de los animales evidenciaron ausencia de lesiones macroscópicas sugerentes de enfermedad, a excepción de un caso en pulmón que si evidenció lesiones y que fueron confirmadas por el análisis microscópico del órgano. Sin embargo, histopatológicamente se comprobó la presencia de numerosas lesiones “background” en los órganos analizados. Se realizó una comparación de estas lesiones a través de un análisis estadístico de acuerdo al número de muestras que arrojaron diferencias nominales en hígado, bazo y corazón, que deben considerarse exploratorios por el tamaño muestral. A partir de estos hallazgos podemos concluir que la ausencia de lesiones macroscópicas, no descarta la presencia de cambios microscópicos en los tejidos y que el conocimiento de la frecuencia y distribución de lesiones “background” resulta fundamental para una correcta evaluación e interpretación de la histopatología de los animales de laboratorio.

ABSTRACT

Background lesions are pathological findings that fall outside the normal range of variation for a particular species or strain, and can be a common occurrence in laboratory animals. These lesions can be mistaken for drug-induced changes or exacerbated by experimental treatments, making it crucial for researchers to be aware of their prevalence and characteristics. This retrospective study aimed to analyze the presence of background lesions in the liver, kidney, spleen, lung, and heart of 31 healthy mice from three different strains (CF1, C57BL/6, CD1) and both sexes, sourced from two bioteriums in Argentina. The results obtained from the necropsies of the animals showed an absence of macroscopic lesions suggestive of disease, except for one case in the lung that did show lesions and that were confirmed by the microscopic analysis of an organ. However, histopathological examination demonstrated numerous background lesions in the organs studied. A comparison of these lesions was made through a statistical analysis according to the number of samples that yield nominal differences in liver, spleen and heart, which should be considered exploratory due to the sample size. These findings highlight the importance of microscopic evaluation in laboratory animals, as the absence of macroscopic lesions does not exclude the presence of microscopic changes in tissues. A thorough understanding of the frequency and distribution of background lesions is essential for accurate interpretation of histopathological findings in experimental studies.

I. INTRODUCCIÓN

La experimentación con animales es un componente esencial de la investigación biomédica. Los avances de la investigación en cáncer, cardiología, trasplantes de órganos, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y enfermedad de Alzheimer, se deben a las contribuciones de los estudios realizados en animales de laboratorio (Balch y col., 1990, Zuñiga y col., 2001).

Dentro de los modelos de experimentación, el ratón es el más conocido y utilizado en la mayor parte de las experimentaciones *in vivo*, es el modelo elegido para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a diversas injurias como, por ejemplo, una intoxicación o una infección experimental (parasitaria, bacteriana o vírica), reacciones o trastornos inmunológicos, oncológicos, teratológicos y embriológicos (Atchley y Fitch, 1991 y Benavides y Guénet, 2003).

Estos animales son para el investigador un reactivo biológico, por lo cual, su estado sanitario debe ser vigilado y controlado. Por esta razón, se requiere la producción de animales “estandarizados” o “definidos” con características genéticas y sanitarias definidas, criados en ambientes controlados, que respeten los requerimientos de la especie, con el correcto cumplimiento de los principios éticos y de bienestar animal (Balch y col., 1990).

Los bioterios son lugares donde se alojan animales con calidad genética y microbiológica definida, que serán posteriormente utilizados en investigación. En general, estos cuentan con un ambiente estandarizado donde se controla la calidad y cantidad de luz, la renovación del aire, la temperatura y la humedad, entre otros factores, de acuerdo a las necesidades de la especie que habita en el mismo. Actualmente, en Argentina 97 bioterios se encuentran incluidos en el Sistema Nacional de Bioterios (SNB) de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación (ex MINCYT) y el Consejo Interinstitucional de Ciencia y Tecnología (CICyT). Estos bioterios alojan animales de laboratorio en todas sus categorías, que se destinan a cría, experimentación, ensayos biológicos y docencia, y se encuentran instalados en instituciones del sistema académico y científico argentino (<https://www.argentina.gob.ar/ciencia/sistemasnacionales/bioterios>).

Según los estándares internacionales y de acuerdo con la presencia o ausencia de microorganismos, se han desarrollado animales con destino a investigación que pueden

clasificarse como: convencionales o axénicos, cuando no están infectados con patógenos zoonóticos y son libres de gérmenes; en gnotobióticos o con flora bacteriana o vírica conocida, y en SPF o libres de gérmenes patógenos específicos (Festing, 1994; Hau y Craver, 1994, Olfert y col., 1998). Es bien conocido que el estado sanitario de los animales interfiere en el resultado de las investigaciones, por lo cual, el uso de animales con un estado de salud deficiente conduce irreversiblemente a la obtención de resultados erróneos. La sanidad de los animales de laboratorio está determinada por numerosos factores, entre los cuales se incluyen: la biología del animal, el perfil genético, las condiciones ambientales del alojamiento, las prácticas y manejo al que son sometidos (Zuñiga y col., 2001; Festing y Vaughn, 2004). En los animales que se utilizan en experimentación es fundamental establecer y mantener su calidad sanitaria, para ello, se debe llevar un registro y control de su estado de salud y particularmente de su condición microbiológica (Laborde, 2017).

En Argentina, Carriquiriborde y col. (2019), publicaron un estudio sobre la contaminación microbiológica en animales de laboratorio en bioterios convencionales con el objetivo de detectar la presencia de infecciones microbianas. El autor concluye que es necesario mejorar los programas de vigilancia de salud de los animales de bioterios en Argentina para trabajar en cumplimiento de normas internacionales. La presencia de agentes infecciosos en colonias de animales de laboratorio, en general, causan infecciones subclínicas o asintomáticas y eventualmente puede provocar signos clínicos. La interferencia de estos agentes en la investigación biomédica se debe a que producen alteraciones en los parámetros fisiológicos que se comportan como variables significativas en los resultados experimentales. En nuestro país, existen publicaciones sobre la presencia de enfermedades en ratones de bioterio, entre ellas, la encefalomiелitis murina de Theiler (Laborde y col., 2011), el virus diminuto del ratón (Laborde, 2017).

Las lesiones “background” o de fondo son hallazgos patológicos que generalmente se consideran un cambio en la morfología del tejido fuera del rango de variación normal para una especie o cepa particular (Shackelford y col., 2002; Long y Hardisty, 2012). Los hallazgos “background” pueden ser confundidos con las lesiones inducidas por un fármaco o bien exacerbadas por los tratamientos en estudios experimentales (McInnes, 2017). Estas lesiones pueden ser congénitas o hereditarias, variaciones normales de hallazgos que son exclusivos de una raza o cepa, o pueden estar

relacionados con alteraciones de diversos orígenes, pueden deberse al envejecimiento normal y cambios fisiológicos de los animales (McInnes, 2012a; McInnes y Scudamore, 2014). Las lesiones “background” son congénitas cuando están presentes al momento del nacimiento y probablemente representan anomalías en la embriogénesis normal y la migración de órganos del animal no nacido (McInnes, 2017). Por ejemplo, el tabique o septum vaginal que se presenta principalmente en ratones hembra y con menor frecuencia en ratas, es un cambio congénito que causa disminución de la fertilidad en ambas especies (Tsong-Keng y col., 2013). En ratones, su expresión se ha descrito como una anomalía de origen poligénica (Cunliffe-Beamer y Feldman, 1976; Shire, 1984). Entre las lesiones “background” también se incluyen cambios normales de envejecimiento y condiciones degenerativas. Los cambios “background” del envejecimiento incluyen algunas patologías muy bien conocidas como la nefropatía crónica (enfermedad renal crónica en ratas y ratones), la cardiomiopatía (enfermedad cardíaca crónica en ratas y ratones) y poliarteritis (inflamación crónica de vasos sanguíneos en ratones) (McInnes y Scudamore, 2014). Las lesiones “background” influenciadas por el envejecimiento también incluyen tumores espontáneos (no inducidos por tratamientos) en roedores principalmente de avanzada edad. Es importante que el personal que participa en estudios con animales de laboratorio conozca la incidencia de estos tumores de origen natural en la cepa utilizada, para poder evaluar si un tratamiento externo ha provocado un aumento en la incidencia de un tipo de tumor en particular (Hardisty, 1985). Existen numerosas referencias sobre la incidencia “background” esperada de tumores espontáneos y sus descripciones en las diversas cepas de roedores (Sacco y col, 2023).

Por otra parte, las lesiones “background” también se asocian con la variabilidad fisiológica, incluida la senescencia reproductiva y la madurez sexual, ya que se produce una variabilidad significativa en la aparición de los órganos reproductivos como resultado de la ciclicidad reproductiva normal. Los ejemplos incluyen cambios asociados con el estro, la maduración sexual y el envejecimiento reproductivo en ambos sexos (McInnes, 2017). La fisiología normal en roedores también puede producir cambios “background” como por ejemplo la hematopoyesis extramedular (presencia de pequeños grupos de células sanguíneas inmaduras) en el bazo y el hígado, la falla en el cierre de la placa de crecimiento en los huesos largos, la erupción continua de los dientes incisivos o la involución tímica.

El estrés es una respuesta fisiológica normal, y puede ser causado por ruidos, cambios en la temperatura, manipulación, restricción, recolección de muestras, transporte o alojamiento de animales en grupos (Everds y col., 2013). Además, el estrés puede llevar a una reducción o aumento del peso corporal, a una reducción en el consumo de alimentos, a cambios en el peso de los órganos, agotamiento de linfocitos en el timo y el bazo, aumento o disminución de los niveles de glóbulos blancos en la sangre, ulceración gástrica y atrofia de órganos reproductivos (Everds y col., 2013). Todos estos cambios podrían incluirse como “background” en un análisis de los tejidos afectados. Algunas lesiones “background” son causadas por agentes infecciosos. Por ejemplo, se reportan lesiones que consisten en macrófagos alveolares y engrosamiento de la pared alveolar pulmonar en ratas Wistar, jóvenes e inmunocompetentes, y recientemente se ha demostrado que estos hallazgos están asociados con la presencia de ADN de *Pneumocystis jirovecii* (Livingston y col., 2011; Henderson y col., 2012). Además, otras afecciones como la enfermedad respiratoria crónica producida por *Mycoplasma pulmonis* como patógeno primario, y en co-infección con el bacilo respiratorio asociado a cilios (*Cilia-Associated Respiratory Bacillus*, CARB), virus respiratorios (virus Sendai) y factores ambientales (amoníaco) (Bartholod y col., 2016) pueden afectar significativamente el tejido pulmonar. Por otra parte, los hallazgos “background” pueden ser de origen traumático y pueden incluir fracturas, heridas por mordedura y lesiones en manos y pies.

Los artefactos son un subgrupo de cambios “background” que incluyen problemas en la recolección y procesamiento de las muestras de tejidos (McInnes, 2012b). Los artefactos se producen en diferentes etapas de la toma y procesamiento de muestras, y generalmente, es posible que el patólogo establezca en qué parte del proceso se generó el artefacto de manera que se puedan tomar medidas preventivas.

I.1. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

I.1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar retrospectivamente la presentación de lesiones “background” en hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón de ratones provenientes de dos bioterios de la República Argentina.

I.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1: Determinar las lesiones macroscópicas “background” detectadas durante la necropsia en hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón de ratones de dos bioterios del país.

2: Determinar lesiones microscópicas “background” diagnosticadas por histopatología en hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón de ratones de dos bioterios del país.

3: Comparar la presentación de lesiones microscópicas “background” en hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón entre cepas, sexos y tejidos analizados en dos bioterios del país.

I.1.3. HIPÓTESIS

Ratones provenientes de dos bioterios de la república argentina presentan lesiones “background” en hígado, bazo, riñón, corazón y pulmón.

II. MARCO TEÓRICO Y METODOLÓGICO

II.1. MARCO TEÓRICO

Es bien conocido que el estado sanitario de los animales interfiere en el resultado de las investigaciones, por lo cual, el uso de animales con un estado de salud deficiente conduce irreversiblemente a la obtención de resultados que pueden llevar a falsas interpretaciones. La sanidad de los animales de laboratorio está determinada por numerosos factores, entre los cuales se incluyen: la biología del animal, el perfil genético, las condiciones ambientales del alojamiento, las prácticas y manejo al que son sometidos (Zuñiga y col., 2001; Festing y Vaughon, 2004). En los animales que se utilizan en experimentación es fundamental establecer y mantener su calidad sanitaria, para ello, se debe llevar un registro y control de su estado de salud y particularmente de su condición microbiológica (Laborde, 2017).

Los estudios preclínicos para la evaluación de fármacos tienen como objetivo demostrar que un compuesto es aceptable en cuanto a la eficacia y seguridad para su ensayo clínico en seres humanos. Luego del desarrollo de un estudio, la ejecución de una necropsia completa en los animales, incluyendo la toma de muestras sistemática es fundamental para evitar la repetición innecesaria de estudios con el consiguiente uso de un mayor número de animales. La reproducibilidad de la investigación en modelos in vivo utilizando roedores de laboratorio como modelos experimentales depende de muchos factores, incluidos el diseño experimental, la cepa o el stock, los protocolos experimentales y los métodos de evaluación de los datos. Los hallazgos macro y microscópicos son a menudo los puntos finales de tal investigación y existe una preocupación creciente acerca de la precisión y la reproducibilidad de los diagnósticos (Ward y col., 2017; Sacco y col., 2020). La reproducibilidad de los resultados histopatológicos depende de la implementación de un vocabulario estandarizado común, un estudio competente y un conocimiento profundo de las cepas y stocks de animales de laboratorio que son usados en la investigación. Se ha publicado en el boletín de la Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología en Animales de Laboratorio (AACYTAL), que la evaluación histopatológica, depende en gran medida de la experiencia individual y capacitación de los patólogos, quienes deben poder reconocer

las lesiones asociadas a los compuestos en evaluación, así como también las lesiones “background” propias de la especie y cepa utilizada en el ensayo. Es fundamental, que las lesiones de “background” no sean confundidas con aquellas inducidas en un modelo experimental o las producidas por un fármaco o sustancia química en ensayo (McInnes y Scudamore, 2014; McInnes 2017). En Argentina, la información publicada sobre la prevalencia de lesiones “background” en animales de bioterios es escasa y se limita a reportes de casos en jornadas y congresos (Sacco y col. 2021 ab; Arnodo y col. 2020; Sacco y col. 2019ab; Sánchez Córdoba y col. 2019; Sacco y col., 2018ab)

Algunos órganos son, en general, las principales dianas de estudios biomédicos, entre ellos, el hígado, bazo, riñones, pulmón y corazón, es por ello que son de elección para los análisis histopatológicos en estos ensayos. La evaluación de una biopsia hepática para detectar una reacción adversa a un fármaco y la detección de una posible lesión hepática es uno de los problemas más desafiantes de la patología hepática en la investigación farmacéutica preclínica y puede representar un grave impedimento para el desarrollo de fármacos nuevos, eficaces y seguros. (Ramachandran y col., 2008; Boone y col., 2005). Otro órgano importante en los ensayos toxicopatológicos es el riñón. Varios agentes terapéuticos tienen potencial nefrotóxico conocido, algunos ejemplos son los fármacos antimicrobianos, los agentes quimioterapéuticos, los analgésicos y los agentes inmunosupresores (Elseviers y De Broe, 1999; Schetz, 2005; Lamieire y col., 2005; Barnett y Cummings, 2018). El bazo es otro órgano esencial en las evaluaciones de seguridad. El bazo es un sitio de toxicidad directa e indirecta y objetivo para algunos carcinógenos. Debido a la presencia de linfocitos B y T, los efectos inmunotóxicos de los xenobióticos o sus metabolitos sobre estas poblaciones celulares pueden reflejarse en este órgano. Por otra parte, en un estudio del Programa Nacional de Toxicología (NTP, National Toxicology Program, <https://ntp.niehs.nih.gov/>), se destaca al pulmón como objetivo común de neoplasia por carcinógenos químicos en ratones y ratas. Además, procesos patológicos como la hiperplasia y la inflamación fueron los cambios no neoplásicos más comunes observados en los bioensayos de toxicología y carcinogénesis del NTP (Dixon y col., 2008). Finalmente, la cardiotoxicidad se ha identificado como un efecto secundario limitante de dosis adverso importante asociado con varios agentes quimioterapéuticos. (Herman y Eldridge, 2019; Berridge y col., 2013; Greaves, 2007). Las respuestas a las lesiones del sistema cardiovascular son similares a las de otros

órganos, con la excepción de que se reconoce en gran medida que la capacidad de regeneración de los cardiomiocitos es mínima e insuficiente para reemplazar la pérdida significativa de masa cardíaca (Berridge y col., 2016). En los cinco órganos mencionados (hígado, bazo, riñón, pulmón y corazón) se describieron lesiones “background” en animales de laboratorio (McInnes, 2012).

El presente estudio retrospectivo de lesiones se realizó con informes histopatológicos de animales que fueron remitidos al Centro de Medicina Comparada del Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (CMC-ICIVET Litoral) de la Universidad Nacional del Litoral para monitoreos sanitarios. Los mismos provenían de dos bioterios de la República Argentina y se les realizó necropsia y toma de muestras de órganos para histopatología. A partir de los informes histopatológicos de estos animales se buscaron y clasificaron las lesiones “background” descritas en hígado, bazo, riñones, corazón y pulmón.

II.2. MATERIALES Y MÉTODOS

II.2.1. Origen de los animales.

Los datos analizados en este estudio retrospectivo fueron de animales provenientes de dos bioterios de la República Argentina. Los ratones se remitieron al CMC- ICIVET Litoral para monitoreo sanitario histopatológico como parte del servicio de monitoreo sanitario externo ofrecido a otros bioterios (Anexo VI: Oferta de monitoreo sanitario externo CMC- ICIVET Litoral). Por razones de confidencialidad los denominaremos bioterio A y bioterio B. Para este estudio se evaluaron los órganos de un total de 31 ratones clínicamente sanos (sin ningún tipo de tratamiento experimental o signo clínico de enfermedad) de 3 cepas diferentes (CF1, C57BL/6, CD1) y de ambos sexos.

Dado que el plan de trabajo fue elaborado en 2019, durante el período previsto para su ejecución se produjo la pandemia de COVID-19. En consecuencia, y teniendo en cuenta las sugerencias de los evaluadores del plan de estudio, el diseño original debió adaptarse y el estudio se reformuló como un análisis retrospectivo. Además, tras los dos años de pandemia, una parte significativa del equipo de trabajo inicial ya no integraba el Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET Litoral) o la UNL, lo que afectó de manera directa el desarrollo del presente estudio.

II.2.1.1. Bioterio A: características

Es un establecimiento dedicado a la cría y reproducción de animales de laboratorio (ratas y ratones). Las cepas de ratones producidas en el mismo son: C57BL/6 (ST 1385) endocriados y CD1 (ST 1386) wild-type, exocriados. Los núcleos fundadores de ambas cepas se alojaban en sistemas de microaisladores. Los animales destinados a experimentación se alojaban en jaulas convencionales y en racks microventilados. Los monitoreos microbiológicos se realizaban ocasionalmente, sin un cronograma fijo. Dentro de la clasificación del estatus microbiológico informado por el bioterio los animales eran S.P.F. (Specified-pathogen free), es decir animales con una microflora normal, sin patógenos especificados, ni oportunistas.

De este bioterio se recibieron 7 ratones, 5 de la cepa C57BL/6 (ST 1385) endocriados (2 machos y 3 hembras) y 2 animales de la cepa CD1 (ST 1386) (1 macho y 1 hembra).

II.2.1.2. Bioterio B: características.

El establecimiento disponía de la cepa CF1 (exocriadas) y animales pertenecientes a la cepa C57BL/6. Los animales se clasificaron microbiológicamente como animales convencionales, es decir, que no poseían definida su microflora, pero no eran fuentes potenciales de zoonosis. Este bioterio no proporcionó más información respecto a las características generales de sus instalaciones, ni si realizaban controles microbiológicos de rutina en los animales.

De este bioterio se recibieron 24 ratones, 4 de la cepa C57BL/6 (2 machos y 2 hembras) y 20 ratones de la cepa CF1 (exocriadas) (10 machos y 10 hembras).

La información antes descrita de los bioterios de origen de los animales fue proporcionada por los mismos establecimientos al momento de remitir los animales.

De los animales provenientes de ambos bioterios se evaluaron los informes histopatológicos de un total de 154 órganos correspondientes a corazón (n: 30, en uno de los animales del Bioterio A no se pudo obtener esa muestra), hígado (n: 31), riñones izquierdo y derecho (n: 31), bazo (n: 31) y pulmones (n: 31).

A continuación, se detalla el procedimiento realizado con los animales y las muestras que se tomaron a partir de las necropsias y su posterior procesamiento histopatológico. Si bien este trabajo final tiene como objetivo analizar retrospectivamente la presentación de lesiones “background”, consideramos importante explicar el origen y manejo de las muestras a partir de las cuales se analizaron las lesiones.

II.2.2. Control sanitario.

Una vez ingresados los animales a dependencias del CMC-ICIVET Litoral se procedió a la identificación, registro de edad, sexo, peso y al control del estado de salud de los mismos. La evaluación clínica de los animales incluyó el examen de piel y pelo, condición corporal, mucosas, presencia de secreciones, sistema respiratorio, cardíaco y nervioso, actividad motora y patrones de conducta y se registró cualquier hallazgo clínico.

II.2.3. Necropsia y obtención de muestras.

Una vez finalizado el control sanitario, se procedió a la eutanasia de acuerdo con los procedimientos operativos estandarizados (POEs) del CMC-ICIVET Litoral.

Posteriormente, se realizó la necropsia completa de todos los animales recibidos teniendo en cuenta las consideraciones propias para la especie y siguiendo los lineamientos establecidos en los POEs vigentes del CMC-ICIVET Litoral. Las lesiones macroscópicas observadas durante la necropsia fueron registradas en una planilla confeccionada para tal fin.

II.2.4. Procesamiento de muestras.

Las muestras obtenidas de hígado, corazón, bazo, pulmón y riñones fueron fijadas en formol bufferado al 10% (formaldehído al 4%) dentro de recipientes plásticos, y procesadas en el Área Analítica del CMC, sub-área de Histopatología. Bajo campana de extracción, se procedió a la reducción y procesamiento de las muestras y posterior inclusión en parafina. A continuación, se detalla el protocolo de procesamiento.

Protocolo de procesamiento de muestras histopatológicas según técnica analítica del CMC:

1. Alcohol 70°, 2 hs
2. Alcohol 96° 1, 2 hs.
3. Alcohol 96° 2, 1 h.
4. Alcohol 96° 3, 1 h.
5. Alcohol 100° 1, 1 h.
6. Alcohol 100° 2, 1 h.
7. Alcohol 100° 3, 2 hs o toda la noche.
8. Xileno 1, 1 h.
9. Xileno 2, 1 h.
10. Xileno 3, 1 h.
11. Parafina 1, 2 hs.
12. Parafina 2, 1,5 hs.
13. Parafina 3, 1,5 hs.

Se confeccionaron tacos de parafina correspondientes a cada muestra y posteriormente se realizaron cortes seriados de 4 μm de espesor de cada órgano con un micrótopo rotativo semiautomático (Leica RM 2245). Posteriormente, se realizó la coloración con Hematoxilina (Biopur) y Eosina (Biopur) siguiendo el siguiente procedimiento.

Coloración de Hematoxilina-Eosina

1. Desparafinado Xilol (1), 15 minutos.
2. Desparafinado Xilol (2), 10 minutos.
3. Hidratación Etanol 100 (1), 2 minutos.
4. Hidratación Etanol 100 (2), 2 minutos.
5. Hidratación Etanol 96 (1), 2 minutos.
6. Hidratación Etanol 96 (2), 2 minutos.
7. Hidratación Etanol 70, 2 minutos.
8. Hidratación Agua destilada, 5 minutos.
9. Hematoxilina “Activada” BIOPUR ®, 1-2 minutos
10. Agua destilada, lavar. 1 minuto.
11. Agua corriente para virar.
12. Agua destilada, lavar. 1 minuto.
13. Eosina, 1-5 minutos.
14. Agua destilada, 15 segundos.
15. Deshidratación Etanol 70, 30 segundos.
16. Deshidratación Etanol 96 (1), 1 minuto.
17. Deshidratación Etanol 96 (2), 1 minuto
18. Deshidratación Etanol 100 (1), 1 minuto.
19. Deshidratación Etanol 100 (2), 1 minuto.
20. Aclarado Xilol (1), 3 minutos.
21. Aclarado Xilol (2), 5 minutos.
22. Montaje

II.2.5. Análisis histopatológico.

Las muestras de los órganos fueron evaluadas por patólogos con experiencia y formación en toxicopatologías pertenecientes al CMC-ICIVET Litoral quienes confeccionaron los informes que se analizan en este trabajo final integrador en busca de las lesiones “background” observadas. A partir de las lesiones detalladas en los informes se confeccionó una planilla de Microsoft Excel para posteriormente clasificar las lesiones y analizar su frecuencia de aparición. Todo el trabajo se realizó bajo la supervisión de los patólogos del ICIVET Litoral.

II.2.6. Análisis estadístico.

En relación al diseño y a las variables se definió como unidad experimental al animal individual, al bioterio de origen como (A/B), la cepa (6 niveles), sexo (Hembra/Macho), edad (días; continua) y peso (g; continua). Las respuestas halladas se definieron por órgano como: presencia/ausencia de hallazgos histopatológicos específicos (bazo, hígado, riñón, pulmón, corazón).

Las variables cuantificadas fueron evaluadas con el programa SPSS Statistics 25 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Se realizó el siguiente análisis descriptivo:

- Para variables continuas (edad, peso): media \pm DE y mediana [RIC], global y por bioterio/cepa/sexo.
- Para variables de lesión: n/N (%) de positivos, global y estratificado por bioterio/cepa/sexo (por órgano).

Adicionalmente, se planteó un modelado por órgano y por lesión mediante una variable respuesta binaria (presencia=1/ausencia=0) utilizando un modelo lineal generalizado binomial (regresión logística), con efectos fijos previstos: bioterio + cepa + sexo + edad (y opcionalmente peso como covariable), y reporte de OR con IC95% y valor p.

El análisis inferencial se realizó de forma bivariada/exploratoria, estimando OR crudas y comparando proporciones mediante prueba exacta de Fisher, reportando OR con IC95% y valores de p.

III. RESULTADOS

Los resultados expresados en las siguientes tablas pertenecen al registro de peso, cepas, sexo, edad y evaluación histopatológica realizada en hígado, pulmones, corazón, bazo y riñones de los animales de ambos bioterios, para determinar la presencia de lesiones “background” o lesiones espontáneas, independientemente de si estos órganos presentaron o no lesiones macroscópicas a la necropsia.

III.1. Identificación y registro de pesos.

En la **tabla 1** se indica bioterio, la especie, cepa, sexo, edad y peso de los animales remitidos.

Tabla 1. Bioterio, especie, cepa, sexo, edad y peso de los animales remitidos por los bioterios A y B.

Bioterio	Animal	Especie	Cepa	Sexo	Edad (días)	Peso (gramos)
A	1	Ratón	C57BL/6J	Macho	22	16,02
A	2	Ratón	C57BL/6J	Macho	109	27,2
A	3	Ratón	C57BL/6J	Hembra	36	19,8
A	4	Ratón	C57BL/6J	Hembra	234	30,42
A	5	Ratón	C57BL/6J	Hembra	234	36,13
A	6	Ratón	CD1	Macho	42	35,91
A	7	Ratón	CD1	Hembra	42	35,90
B	1	Ratón	C57BL/6J	Macho	111	26,1
B	2	Ratón	C57BL/6J	Macho	111	28,3
B	3	Ratón	C57BL/6J	Hembra	121	24,3
B	4	Ratón	C57BL/6J	Hembra	121	24,3
B	5	Ratón	CF1	Hembra	183	21,8
B	6	Ratón	CF1	Hembra	180	46
B	7	Ratón	CF1	Hembra	188	42,3
B	8	Ratón	CF1	Hembra	189	32,7
B	9	Ratón	CF1	Hembra	184	24,2
B	10	Ratón	CF1	Hembra	45	24,5
B	11	Ratón	CF1	Hembra	315	19,1
B	12	Ratón	CF1	Hembra	25	16,8
B	13	Ratón	CF1	Hembra	23	16,1

B	14	Ratón	CF1	Hembra	48	17,8
B	15	Ratón	CF1	Macho	45	17,7
B	16	Ratón	CF1	Macho	23	17
B	17	Ratón	CF1	Macho	188	35,3
B	18	Ratón	CF1	Macho	187	54,7
B	19	Ratón	CF1	Macho	33	24,5
B	20	Ratón	CF1	Macho	191	45,4
B	21	Ratón	CF1	Macho	25	17,8
B	22	Ratón	CF1	Macho	48	27,6
B	23	Ratón	CF1	Macho	180	27,3
B	24	Ratón	CF1	Macho	183	40,9

Al realizar el análisis estadístico se tuvieron en cuenta el promedio y desvío estándar de la edad y el peso de los animales. También la distribución de cepas por bioterio. Esto se expresa en la tabla 2 y en la tabla 3 a continuación:

Tabla 2. Descriptivos de edad y peso por bioterio.

BIOTERIO	N	EDAD MEDIA	DE	PESO MEDIO	DE
A	7	102.7	93.9	28.77	8.21
B	24	122.8	79.9	28.02	10.79

Tabla 3. Distribución de cepas por bioterio (muestra).

CEPA	BIOTERIO A	BIOTERIO B
C57 BL/6J	5	4
CD1	2	0
CF1	0	20

El bioterio B aportó 24/31 animales (77%), mientras que el bioterio A aportó 7/31 (23%).

- Existe solapamiento parcial entre bioterio y cepa: el bioterio A incluye únicamente C57BL/6J y CD1, mientras que en el bioterio B predominan variantes CF1 y algunos C57BL/6J.

III.2. Hallazgos macroscópicos y microscópicos de lesiones en órganos.

III.2.1. Hígado

Lesiones macroscópicas:

Según los informes de necropsia de los animales de los bioterios A y B, no presentaron lesiones macroscópicas sugerentes de enfermedad.

Lesiones microscópicas:

En la **tabla 4** se muestran las principales lesiones “background” halladas en hígado de ratones de los bioterios A y B.

Tabla 4. Lesiones “background” halladas en hígado de ratones de los bioterios A y B.

Cepa	BIOTERIO A				BIOTERIO B			
	C57BL/6J (n: 5)		CD1 (n: 2)		CF1 (n: 20)		C57BL/6J (n: 4)	
Sexo	Macho (n: 2)	Hembra (n: 3)	Macho (n: 1)	Hembra (n: 1)	Macho (n: 10)	Hembra (n: 10)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 2)
Cariomegalia	2	3	1	1	6	2	0	0
Infiltrados	0	1	1	0	0	1	0	1
Degeneración grasa	0	2	0	0	8	7	1	2
Degeneración vacuolar	2	3	1	1	7	6	0	0
Hematopoyesis extramedular	1	3	0	0	6	2	0	0

En la **tabla 5** se muestra la prevalencia y distribución de las principales lesiones “background” halladas en hígado de ratones de los bioterios A y B. (Análisis Bivariado y Prueba de Fisher).

Tabla 5. Prevalencia de lesiones “background” halladas en hígado de ratones de los bioterios A y B.

LESIÓN	BIOTERIO A	BIOTERIO B		
	A n/N (%)	B n/N (%)	OR (B vs A)	p (Fisher)
Cariomegalia	7/7 (100.0%)	9/24 (37.5%)	0.04	0.0068
Degeneración grasa	2/7 (28.6%)	1/24 (4.2%)	0.14	0.1199
Agregados células inflamatorias	1/7 (14.3%)	2/24 (8.3%)	0.48	0.5497
Degeneración vacuolar	7/7 (100.0%)	19/24 (79.2%)	0.24	0.5622
Hematopoyesis extramedular	4/7 (57.1%)	13/24 (54.2%)	0.91	1.0000

En el bioterio A la hematopoyesis extramedular observada en el hígado fue de tipo eritroide en 1 caso y eritroide-mieloide en 3 casos. Los infiltrados de células inflamatorias observadas fueron principalmente linfocíticos y se ubicaron en espacios periportales. La degeneración grasa observada fue de tipo microvesicular y su distribución difusa. Mientras que la degeneración vacuolar de los hepatocitos fue de distribución difusa de leve a moderada todos los casos.

En el bioterio B la cepa CF1 en hígado la hematopoyesis extramedular fue de tipo mielode en 5 casos; en 4 casos tipo eritroide, mientras que en 3 casos no fue definida y en 8 casos no se presentó. La degeneración vacuolar fue de tipo multifocal de escasa a moderada. La degeneración grasa observada fue de tipo macro y microvesicular y de distribución difusa. Los macrófagos evidenciaron en su citoplasma un pigmento color amarillo interpretado como bilirrubina o lipofuscina.

La comparación para la presentación de la cariomegalia en ambos bioterios muestra diferencia nominal ($p < 0,05$), pero por el tamaño muestral, estos resultados deben considerarse exploratorios.

En la **figura 1** a continuación se muestran imágenes de las lesiones halladas en hígado.

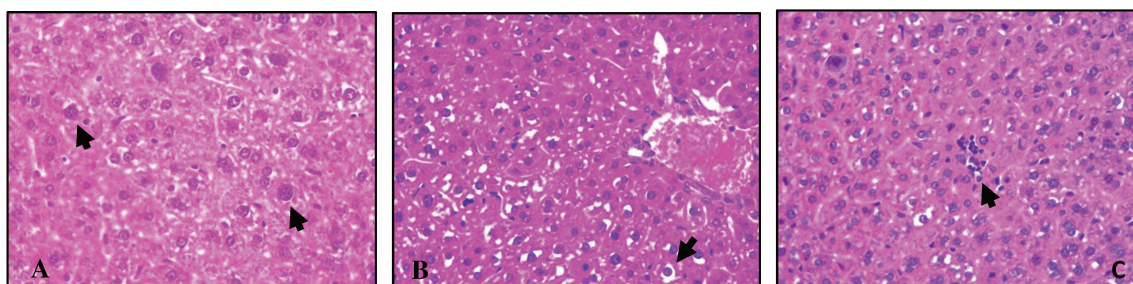


Figura 1. HÍGADO. A: Cariomegalia. La flecha indica un aumento del tamaño del núcleo del hepatocito. **B:** Degeneración vacuolar: La flecha indica vacuolas dentro del citoplasma del hepatocito. **C:** Hematopoyesis extramedular eritroide: la flecha indica un cúmulo de células hematopoyéticas en el parénquima hepático. Tinción utilizada: Hematoxilina y Eosina. 40x

III. 2.2. Riñón

Lesiones macroscópicas:

Según los informes de necropsia de los animales de los bioterios A y B, no presentaron lesiones macroscópicas sugerentes de enfermedad.

Lesiones microscópicas:

En la **tabla 6** se muestran las principales lesiones “background” halladas en riñón de ratones de los bioterios A y B.

Tabla 6. Lesiones “background” halladas en riñón de ratones de los bioterios A y B.

Cepa	BIOTERIO A				BIOTERIO B			
	C57BL/6J (n: 5)		CD1 (n: 2)		CF1 (n: 20)		C57BL/6J (n: 4)	
Sexo	Macho (n: 2)	Hembra (n: 3)	Macho (n: 1)	Hembra (n: 1)	Macho (n: 10)	Hembra (n: 10)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 2)
Congestión	0	0	0	1	3	0	0	0
Vacuolización citoplasmática	0	1	1	0	2	0	0	0
S.L.A	2	3	0	0	4	5	1	2

En la **tabla 7** se muestra la prevalencia y distribución de las principales lesiones “background” halladas en riñones de ratones de los bioterios A y B. (Análisis Bivariado y Prueba de Fisher).

Tabla 7. Prevalencia de lesiones “background” halladas en riñón de ratones de los bioterios A y B y prueba de Fisher.

LESION	BIOTERIO A	BIOTERIO B		
	A n/N (%)	B n/N (%)	OR (B vs A)	p (Fisher)
Vacuolización citoplasmática	1/7 (14.3%)	2/24 (8.3%)	0.48	0.5497
S.L.A	4/7 (57.1%)	16/24 (66.7%)	1.51	0.6757
Congestión	1/7 (14.3%)	3/24 (12.5%)	0.71	1.0000

En el bioterio A en riñón se observaron escasas lesiones siendo la presentación de 1 caso de congestión intersticial moderada y 2 casos con vacuolización focal citoplasmática en células epiteliales de túbulos renales a nivel subcapsular. En los casos en que no se presentaron lesiones, el riñón mantuvo la estructura y detalle celular normal.

En el bioterio B en riñón se observaron escasas lesiones. Se destacan congestión moderada intersticial; infiltrado moderado, multifocal, de tipo linfoplasmocitario distribuido en zona cortical y en pelvis renal. La vacuolización citoplasmática observada fue moderada en epitelio de túbulos renales contorneados corticales superficiales. De los animales analizados, 12 no presentaron lesiones, conservando la estructura y detalle celular renal normal.

La comparación de las lesiones halladas en riñón en ambos Bioterios no muestra diferencia nominal ($p < 0,05$).

En la **figura 2** a continuación se muestra una imagen de un infiltrado linfoplasmocitario hallado en riñón.

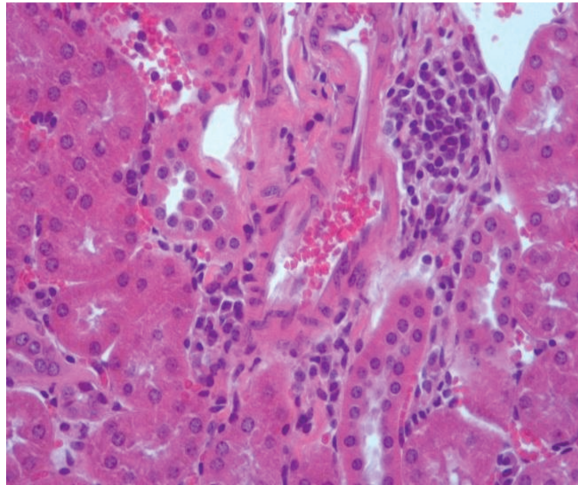


Figura 2. Riñón. Infiltrado linfoplasmocitario intersticial. Puede observarse que el infiltrado ocupa y expande el intersticio renal. Tinción: Hematoxilina yEosina.40X

III. 2.3. Bazo

Lesiones macroscópicas:

Según los informes de necropsia de los animales de los bioterios A y B, no presentaron lesiones macroscópicas sugerentes de enfermedad.

Lesiones microscópicas:

En la **tabla 8** se muestran las principales lesiones “background” halladas en bazo de ratones de los bioterios A y B.

Tabla 8. Lesiones “background” halladas en bazo de ratones de los bioterios A y B.

Cepa	BIOTERIO A				BIOTERIO B			
	C57BL/6J (n: 5)		CD1 (n: 2)		CF1 (n: 20)		C57BL/6J (n: 4)	
Sexo	Macho (n: 2)	Hembra (n: 3)	Macho (n: 1)	Hembra (n: 1)	Macho (n: 10)	Hembra (n: 10)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 2)
Apoptosis	0	1	1	1	2	1	0	0
Depósito de pigmento	0	2	0	0	4	3	0	2
Hematopoyesis extramedular	2	3	1	1	10	10	2	2
Hiperplasia linfocítica	0	1	1	1	1	1	0	0

En la **tabla 9** se muestra la prevalencia y distribución de las principales lesiones “background” halladas en bazo de ratones de los bioterios A y B. (Análisis Bivariado y Prueba de Fisher).

Tabla 9. Prevalencia de lesiones “background” halladas en bazo de ratones de los bioterios A y B y prueba de Fisher.

LESION	BIOTERIO A	BIOTERIO B		
	A n/N (%)	B n/N (%)	OR (B vs A)	p (Fisher)
Hiperplasia de células plasmáticas	3/7 (42.9%)	22/24 (91.7%)	11.57	0.0138
Apoptosis	3/7 (42.9%)	3/24 (12.5%)	0.21	0.1100
Hematopoyesis extramedular	6/7 (85.7%)	23/24 (95.8%)	3.62	0.4065
Hiperplasia linfoide	1/7 (14.3%)	4/24 (16.7%)	0.95	1.0000

En el bioterio A en el bazo se observó apoptosis principalmente en pulpa blanca; y presencia de depósito de pigmento marrón dorado intracitoplasmático en los macrófagos ubicados en pulpa roja y pulpa blanca (compatible con hemosiderina).

La apoptosis de linfocitos es un hallazgo común en los centros germinales foliculares ricos en células B del bazo de los roedores. Esta puede ser inducida o incrementarse tras exposiciones experimentales a radiación, virus, endotoxinas o sustancias químicas. En este caso, dado que los animales no fueron expuestos a ningún tratamiento, este hallazgo se considera un hallazgo de fondo (background) propio de la cepa.

La hematopoyesis extramedular fue de tipo eritroide en 4 casos y eritroide - mieloide en 1 caso. La hiperplasia linfocítica se ubicó a nivel de área folicular y marginal de las vainas periportales de la pulpa blanca. En los casos en que no se presentaron lesiones, el bazo mantuvo la estructura y detalle celular normal.

En el bioterio B en el bazo se observó apoptosis moderada principalmente en pulpa blanca folicular y en vaina periarteriolar en ratones de la cepa CF1. Los macrófagos evidenciaron un pigmento marrón dorado globular en su citoplasma (hemosiderina). También se evidenció moderada hematopoyesis extramedular de tipo

eritroide y mieloide en 6 machos y 8 hembras; de tipo únicamente eritroide en 4 machos y en 2 hembras en todos los casos ubicada en pulpa roja. Los ratones de ambos sexos pertenecientes a la cepa C57BL/6 evidenciaron moderada hematopoyesis extramedular de tipo eritroide y mieloide en pulpa roja. Además, se evidenció leve hiperplasia linfocítica y de células plasmáticas.

La comparación de la hiperplasia de células plasmáticas en ambos Bioterios muestra diferencia nominal ($p < 0,05$), pero por el tamaño muestral, estos resultados deben considerarse exploratorios.

En la **figura 3** a continuación se muestran imágenes de lesiones halladas en bazo.

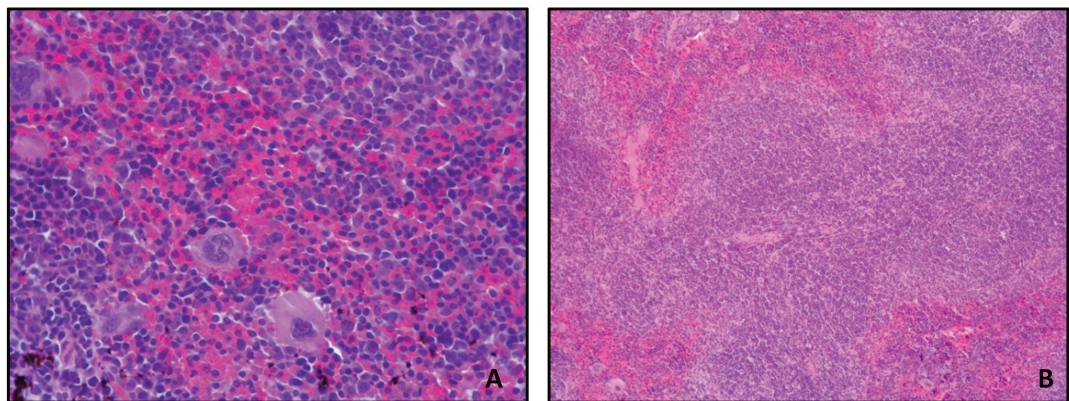


Figura 3. Bazo. A: Hematopoyesis extramedular eritroide con megacariocitos. **40X.**

B: Hiperplasia linfoide folicular. **10X.** Tinción: Hematoxilina y Eosina.

III. 2.4. Pulmón

Lesiones macroscópicas:

Según los informes de necropsia algunos de los animales del bioterio A, presentaron lesiones macroscópicas descritas como leve congestión difusa y focos hemorrágicos, lesiones interpretadas como consecuencia del método de eutanasia.

Lesiones microscópicas:

En la **tabla 10** se muestran las principales lesiones “background” halladas en pulmón de ratones de los bioterios A y B.

Tabla 10. Lesiones “background” halladas en pulmón de ratones de los bioterios A y B.

Cepa	BIOTERIO A				BIOTERIO B			
	CD1(n:2)		C57BL/6J (n: 5)		CF1 (n: 20)		C57BL/6J (n: 4)	
Sexo	Macho (n:1)	Hembra (n: 1)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 3)	Macho (n: 10)	Hembra (n: 10)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 2)
Congestión	1	1	2	3	9	7	2	0
Hiperplasia epitelial	1	1	2	3	10	10	2	2
Hemorragia	0	0	1	0	1	4	1	0
Infiltrados	0	0	0	1	5	4	1	0

En la **tabla 11** se muestra la prevalencia y distribución de las principales lesiones “background” halladas en pulmón de ratones de los bioterios A y B. (Análisis Bivariado y Prueba de Fisher).

Tabla 11. Prevalencia de lesiones “background” halladas en pulmón de ratones de los bioterios A y B y prueba de Fisher.

LESION	BIOTERIO A	BIOTERIO B		
	A n/N (%)	B n/N (%)	OR (B vs A)	p (Fisher)
Congestión	7/7 (100.0%)	18/24 (75.0%)	0.19	0.2928
Infiltrados	1/7 (14.3%)	10/24 (41.7%)	3.14	0.3717
Hemorragia	1/7 (14.3%)	6/24 (25.0%)	1.52	1.0000
Hiperplasia	7/7 (100.0%)	24/24 (100.0%)	3.27	1.0000

En el bioterio A en pulmón se observó moderada congestión intersticial en todos los animales evaluados y hemorragia leve focal en lúmenes alveolares en 1 caso. La hiperplasia epitelial observada fue localizada en los epitelios alveolares y bronquiolos. Los infiltrados observados fueron de neutrófilos ubicados en el intersticio pulmonar. En el caso en que no se presentaron lesiones, el pulmón mantuvo la estructura y detalle celular normal.

En el bioterio B en pulmón se observó severa congestión intersticial y hemorragia leve focal en lúmenes alveolares y bronquiolares. La hiperplasia epitelial fue moderada

multifocal de neumocitos tipo II alveolares y epitelios bronquiolares. Los infiltrados leucocitarios fueron multifocales e intersticiales principalmente de linfocitos, macrófagos y neutrófilos.

La comparación de las lesiones halladas en pulmón en ambos Bioterios no muestra diferencia nominal ($p < 0,05$).

En la **figura 4** a continuación se muestra una imagen de lesiones halladas en pulmón.

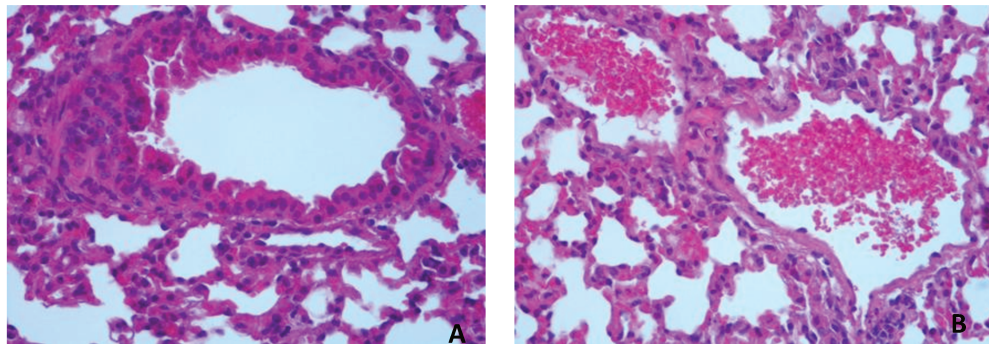


Figura 4. Pulmón. **A:** Hiperplasia epitelial: se observa un bronquiolo con marcado aumento del epitelio de revestimiento. **B:** Congestión: se observa dilatación y presencia de hematíes en vaso sanguíneo Tinción: Hematoxilina y Eosina. **40X.**

III. 2.5. Corazón

Lesiones macroscópicas:

Según los informes de necropsia de los animales de los bioterios A y B, no presentaron lesiones macroscópicas sugerentes de enfermedad.

Lesiones microscópicas:

En la **tabla 12** se muestran las principales lesiones “background” halladas en corazón de ratones de los bioterios A y B.

Tabla 12. Lesiones “background” halladas en corazón de ratones de los bioterios A y B.

Cepa	BIOTERIO A				BIOTERIO B			
	C57BL/6J (n: 4)		CD1 (n: 2)		CF1 (n: 20)		C57BL/6J (n: 4)	
Sexo	Macho (n: 1)	Hembra (n: 3)	Macho (n: 1)	Hembra (n: 1)	Macho (n: 10)	Hembra (n: 10)	Macho (n: 2)	Hembra (n: 2)
Acidofilia citoplasmática	1	0	1	1	0	0	0	0
Hemorragia	0	1	1	0	3	2	0	1
Metaplasia	1	1	0	0	0	1	0	0
Vacuolización citoplasmática	1	0	1	0	2	1	0	0
S.L.A	0	1	0	0	7	6	2	1

En la **tabla 13** se muestra la prevalencia y distribución de las principales lesiones “background” halladas en corazón de ratones de los bioterios A y B. (Análisis Bivariado y Prueba de Fisher).

Tabla 13. Prevalencia de lesiones “background” halladas en corazón de ratones de los bioterios A y B y prueba de Fisher.

LESIÓN	BIOTERIO A	BIOTERIO B		
	A n/N (%)	B n/N (%)	OR (B vs A)	p (Fisher)
Acidofilia citoplasmática	3/6 (50.0%)	1/24 (4.2%)	0.06	0.0181
Metaplasia	2/6 (33.3%)	1/24 (4.2%)	0.11	0.0936
Vacuolización citoplasmática	2/6 (33.3%)	1/24 (4.2%)	0.11	0.0936
S.L.A	2/6 (33.3%)	15/24 (62.5%)	2.94	0.3598

En el bioterio A en corazón se evaluaron ventrículo izquierdo y derecho, aurícula derecha, septum y vértice cardíaco. Las lesiones en el corazón fueron escasas, se observó acidofilia citoplasmática en cardiomiocitos ventriculares y auriculares. Moderada hemorragia en pericardio, epicardio, aurícula y alrededor de los vasos del corazón en un caso. Además, se observó metaplasia ósea leve en arteria aorta en 2 casos. En el caso en que no se presentaron lesiones, el corazón mantuvo la estructura y detalle celular normal.

En el bioterio B en corazón se evaluaron ventrículo izquierdo y derecho, aurícula derecha e izquierda, septum y vértice cardíaco. Las lesiones observadas en el corazón fueron hemorragia focal en endocardio, miocardio y epicardio; infiltrados linfoplasmocítico leve en valvas de válvula auriculoventricular derecha y vacuolización sarcoplasmática leve de los cardiomiocitos en ventrículos derecho e izquierdo.

La comparación de la acidofilia citoplasmática, metaplasia y vacuolización citoplasmática en ambos Bioterios muestra diferencia nominal ($p < 0,05$), pero por el tamaño muestral, estos resultados deben considerarse exploratorios.

En la **figura 5** a continuación se muestran imágenes de las lesiones halladas en corazón.

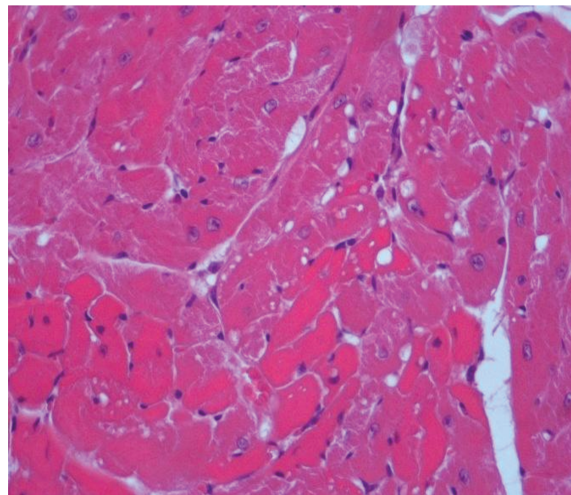


Figura 5. Corazón. Acidofilia y vacuolización citoplasmática en cardiomiocitos. Tinción: Hematoxilina - Eosina.40x

IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En función de los resultados obtenidos podemos considerar que la ausencia de lesiones macroscópicas durante la necropsia en animales de laboratorio no descarta la presencia de cambios microscópicos, siendo la histopatología esencial para evaluar la presencia de lesiones “background”.

En cuanto a las lesiones microscópicas halladas por histopatología en hígado se observó degeneración vacuolar en ambos sexos y cepas evaluadas de los 2 bioterios. Este tipo de lesión en hígado puede asociarse a cambios en la cantidad de glucógeno en los hepatocitos o degeneración hidrópica (Thoolen y col., 2010; Frazier, y col., 2012). En ausencia de tratamientos, los cambios en el contenido de glucógeno se consideran lesiones “background” (Cattley y Popp, 2002). También se evidenció degeneración grasa, este cambio fue poco frecuente y solo se observó en hembras de ambos bioterios. Este cambio es también descrito por otros autores y su presentación puede diferir entre cepas y es un hallazgo normal en ratones BALB/c (Thoolen y col. 2010) siempre y cuando no se encuentre asociado a otras lesiones. La hematopoyesis extramedular se detectó en los hígados de ratones machos y hembras C57BL/6J del bioterio A y CF1 del bioterio B. Debido al número de animales evaluado para cada cepa no es posible hacer interpretaciones de diferencias significativas entre cepas o sexos en este estudio. La hematopoyesis extramedular es frecuente en ratones jóvenes (Detilleux y col., 1995) y en adultos puede estar asociada con condiciones patológicas. La cariomegalia es un hallazgo común en hepatocitos de ratones que puede estar relacionado con la edad de los animales en algunos casos ya que se describe como un hallazgo “background” propio del envejecimiento. Sin embargo, también se observó en animales jóvenes (*National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas: <https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl>*). Este cambio fue observado en ratones C57BL/6J y CD1 de ambos sexos del bioterio A y en ratones CF1 machos y hembras del bioterio B. Considerando el número limitado de animales se dificulta la interpretación de este resultado; por lo tanto, serán necesarios estudios futuros con un mayor número de animales para comprender mejor la significación de la lesión en esta cepa.

Además, se evidenció infiltrados en 2 casos en el bioterio A y pigmentos en 2 casos en el bioterio B. Estos cambios también se describen como “background” en la bibliografía (*National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas:*

<https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl>) y si no presentan otras lesiones asociadas no tiene significación patológica.

El riñón fue un órgano que evidenció escasas lesiones “background”, entre ellas se observó vacuolización citoplasmática, congestión e infiltrados. La vacuolización citoplasmática observada es un cambio que normalmente está presente en los túbulos corticales externos de ratones machos en ciertas cepas, pero no suelen estar presentes en ratones hembras. En nuestro estudio este cambio fue visto en 1 macho CD1 y 1 hembra C57BL/6J del bioterio A y en 2 machos CF2 del bioterio B. La congestión observada es un cambio que fue poco observado y que posee de escasa significación patológica. Los infiltrados fueron frecuentes en ratones CF1 del bioterio B y solo un animal C57BL/6J del mismo bioterio los presentó. En los riñones de los roedores se observan habitualmente infiltrados celulares. Las células infiltrantes suelen ser linfoides o mononucleares y suelen aumentar con la edad. En muchos casos, representan un hallazgo “background” que tiene poca importancia patológica (*National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas: https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl*).

En bazo se evidenció frecuentemente hematopoyesis extramedular en los ratones de ambos sexos de los bioterios bioterios A y B y en todas las cepas evaluadas; este cambio se observa comúnmente en roedores como un componente normal de la pulpa roja del bazo (Elmore, 2006). Otras lesiones como la hiperplasia linfoide pueden mostrarse como un aumento variable en el área y el número de elementos de la pulpa blanca (PALS, folículos y / o zonas marginales). La hiperplasia de linfocitos en el bazo ocurre con mayor frecuencia en ratones que en ratas, y los ratones hembras se ven más comúnmente afectados que los machos.

Por otra parte, el corazón mostró escasas lesiones “background”, en algunos pocos casos se observó acidofilia o vacuolización citoplasmática de cardiomiocitos, metaplasia ósea de la arteria aorta, hemorragia o infiltrados.

La metaplasia ósea de la arteria aorta ocurre raramente como una lesión espontánea, sino más bien forma parte de la progresión de mineralización o lesiones ateroscleróticas. En estudios de toxicidad y carcinogenicidad, esto generalmente se considera una lesión espontánea y no suele estar relacionada con la exposición. El hecho de que la metaplasia cartilaginosa se localice con mayor frecuencia en la región aórtica es consistente con la hipótesis de que el estrés mecánico es un factor importante para

promover la metaplasia vascular. Se ha identificado una predisposición genética para la metaplasia cartilaginosa de las arterias en ratones C57BL / 6J. (*National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas: <https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl>*).

La Vacuolización citoplasmática es considerada un proceso degenerativo, que consiste en la acumulación multifocal o generalizada de vacuolas transparentes, múltiples, bien delimitadas, redondas, de tamaño variable. La vacuolización citoplasmática de la miofibra puede ser la única manifestación morfológica observada en la cardiotoxicidad o puede estar asociada con otros cambios que reflejan la cardiotoxicidad (por ejemplo, necrosis de la miofibra, infiltración de células mononucleares, fibrosis), o puede ser un componente menor en el caso de la miocardiopatía espontánea.

Por su parte la acidofilia podría asociarse a degeneración hialina, un cambio evidenciado por presencia de miofibras con marcada eosinofilia e hipercontracción consistente con daño subletal que generalmente representa un punto de partida temprano hacia un proceso progresivo donde la necrosis y el infiltrado inflamatorio podrían volverse más prominentes (Berridge y col., 2006)

El pulmón evidenció congestión y hemorragia en algunos animales de los bioterios A y B. Este cambio en general se asocia al método eutanásico (Frith y col. 2000, Haggerty y col.2006). En cuanto al pulmón la hiperplasia epitelial alveolar observada en las cepas evaluadas, en ambos sexos y en los bioterios A y B, es una proliferación de neumocitos tipo II y junto a la presencia de infiltrados celulares en algunos animales puede ser interpretada como cambios asociados a una lesión o inflamación pulmonar leve.

En conclusión, el análisis microscópico de los órganos es el método de elección para determinar la presencia de cambios “background” en los tejidos de los ratones de laboratorio, fundamentalmente para poder ser diferenciados de cambios reales producto de un tratamiento durante un estudio experimental. Además, es necesario contar con datos de animales sanos (control) de distintas edades, sexos y cepas en cada bioterio que se realicen estudios experimentales con análisis de lesiones histopatológicas. Debido a que, en los estudios preclínicos, la evaluación de la patología en los tejidos implica el reconocimiento de lesiones causadas directamente por el tratamiento y la identificación de “background”, cada laboratorio debe tener su propio registro sobre la presencia de las misma en sus animales. Adicionalmente, los patólogos deben estar familiarizados con las

lesiones “background” presentes en un órgano o tejido en particular, especialmente cuando están trabajando en ensayos preclínicos. Finalmente, el objetivo del reconocimiento de lesiones “background” esperadas en cepas ratones destinados a experimentación es maximizar la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados para la investigación traslacional en estudios preclínicos. Se espera que los datos presentados aquí sean útiles para interpretar la aparición de lesiones “background” en las ocasiones en que se encuentran en estudios de toxicidad o preclínicos. Por último, este estudio proporciona una valiosa información sobre las lesiones “background” encontradas en cepas de ratones C57BL/6J, CF1 y CD1 de bioterios de Argentina.

V. BIBLIOGRAFÍA

- Arnodo V, Sacco SC, Belotti EM, Chiaraviglio JA, Pereyra EAL, Rebelindo E, Salvetti NR, Ortega HH. 2020. Diagnóstico histopatológico de cristales de hemoglobina en pulmones de ratas Wistar/Cmedc. VIII Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión de la Facultad de Ciencias Veterinarias” de la Universidad Nacional del Litoral (UNL).

-Atchley W, Fitch. 1991. Genes trees and the origins of inbred strain of mice. Science; 254: 554-558.

-Balch C, Bleyer A y Krakoff I. 1990. The vital role of animal research in advancing cancer diagnosis and treatment. Cancer Bulletin; 42: 266-269.

-Barnett LMA, Cummings BS. 2018. Nephrotoxicity and Renal Pathophysiology: A Contemporary Perspective. Toxicol Sci. 1;164(2):379-390. doi: 10.1093/toxsci/kfy159. PMID: 29939355.

-Benavides F. y Guénet J. 2003. Manual de genética de roedores de laboratorio: principios básicos y aplicaciones. Alcalá: Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL)-Universidad de Alcalá; 312.

-Berridge BR, Hoffmann P, Turk JR, Sellke F, Gintant G, Hirkaler G, Dreher K, Schultze AE, Walker D, Edmunds N, Halpern W, Falls J, Sanders M, Pettit SD. 2013. Integrated and translational nonclinical in vivo cardiovascular risk assessment: gaps and opportunities. Regul. Toxicol Pharmacol. doi: 10.1016/j.yrtph.2012.09.007.

-Berridge BR, Mowat V, Nagai H, Nyska A, Okazaki Y, Clements PJ, Rinke M, Snyder PW, Boyle MC, WellsM Y. 2016. Non-proliferative and Proliferative Lesions of the Cardiovascular System of the Rat and Mouse. J Toxicol Pathol; 29(3 Suppl): 1S–47S.

-Boone L, Meyer D, Cusick P, Ennulat D, Provencher Bolliger A, Everds N, Meador V, Elliott G, Honor D, Bounous D , Jordan H. 2005. Selection and interpretation of clinical

pathology indicators of hepatic injury in preclinical studies. DOI: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00041.x

-Carrquiriborde M, Milocco S, Laborde JM, Gentil F, Maschi F, Principi G, Rogers E, Cagliada MDP, Ayala MA, Carbone C.2020. Microbiological contaminations of laboratory mice and rats in conventional facilities in Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2020 Apr-Jun;52(2):96-100. doi: 10.1016/j.ram.2019.05.003. Epub 2019 Sep 4. PMID: 31493941.

-Cattley RC, Popp JA. 2002. Liver. In: *Handbook of Toxicologic Pathology* (Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, eds). Academic Press, San Diego, 2:187-225.

-Cunliffe-Beamer T.L. and Feldman D.B. 1976. Vaginal septa in mice: incidence, inheritance, and effect on reproductive performance. *Lab Anim Sci* 26; 895–898.

-Dettileux, P.G., Gruebbel, M.M., Botts, S., et al., 1995. Non-proliferative changes of the liver, exocrine pancreas and salivary glands of the rat. In: *GI-2 guides for toxicologic pathology*. STP/ARP/AFIP, Washington DC.

-Dixon D, Herbert RA, Kissling GE, Brix AE, Miller RA, Maronpot RR. 2008. Summary of chemically induced pulmonary lesions in the National Toxicology Program (NTP) toxicology and carcinogenesis studies. *Toxicol Pathol.* Apr;36(3):428-39. doi: 10.1177/0192623308315360. Epub 2008 Apr 25. PMID: 18441259; PMCID: PMC2675557.

-Elmore SA. 2006. Enhanced histopathology of the spleen. *Toxicol Pathol* 34:648-655.

-Elseviers MM, De Broe ME. 1999. Analgesic nephropathy: is it caused by multi-analgesic abuse or single substance use? *Drug Saf.* 1999 Jan;20(1):15-24. doi: 10.2165/00002018-199920010-00003. PMID: 9935274.

- Everds, N.E., Snyder, P.W., Bailey, K.L., Bolon, B., Creasy, D.M., Foley, G.L., Rosol, T.J. and Sellers, T. 2013. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. *Toxicologic Pathology*, 41; 560–614.
- Festing M. 1994. Reduction of animal use: experimental design and quality of experiment. *Laboratory Animals*; 28: 212-221.
- Festing M., y Vaughn S. 2004. The choice of animal model and reduction. *ATLA Alternatives to Laboratory Animals*, 32(supplement 2): 59-64.
- Frazier, K. S., Seely, J. C., Hard, G. C., Betton, G., Burnett, R., Nakatsuji, S., ... Bube, A. (2012). Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. *Toxicologic Pathology*, 40(4_suppl), 14S-86S.
- Frith CH, WardJM, Chandra M, Losco P (2000). Non-proliferative Lesions of the Hematopoietic System in Rats. HL-1. In: *Guides for Toxicologic Pathology*. STP/ARP/AFIP, Washington, DC.
- Greaves, P. 2007. Liver and pancreas. In Peter Greaves (Ed.), *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*. 3rd edition. (pp 457–514). Oxford, UK: Elsevier.
- Haggerty, G.C., Peckham, J.C., Thomassen, R.W., Gad, S.C., 2007. The dog. In: Gad, S.C. (Ed.), *Animal models in toxicology*, second ed. Taylor & Francis, Boca Raton, pp. 588–645.
- Hardisty, J.F. 1985. Factors influencing laboratory animal spontaneous tumor profiles. *Toxicologic Pathology*, 13: 95–104.
- Hau J. y Craver J. 1994. Refinement in Laboratory Animal Science. Its is Cinderella subject, and is there conflict and imbalance within the 3 Rs? *Scand J Lab Anim Sci*; (4): 161-167.

-Henderson, K.S., Dole, V., Parker, N.J., Momtsios, P., Banu, L., Brouillette, R., Simon, M.A., Albers, T.M., Pritchett-Corning, K.R., Clifford, C.B. y Shek, W.R. 2012. *Pneumocystis carinii* causes a distinctive interstitial pneumonia in immunocompetent laboratory rats that had been attributed to 'rat respiratory virus'. *Veterinary Pathology*, 49: 440–52.

-Herman E, Eldridge S. 2019. Spontaneously occurring cardiovascular lesions in commonly used laboratory animals. *Cardiooncology*. 2019 Jun 3; 5:6. doi: 10.1186/s40959-019-0040-y. PMID: 32154013; PMCID: PMC7048038.

-Laborde, JM. 2017. Estudio de la prevalencia de infecciones producidas por el Virus Diminuto del Ratón (MVM) en Bioterios de Argentina y su influencia en la contaminación de tumores trasplantables. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata.

-Lamieire NH, Flombaum CD, Moreau D, Ronco C. 2005. Acute renal failure in cancer patients. *Ann of Med* 37: 13–25.

-Livingston, R.S., Besch-Williford, C.L., Myles, M.H., Franklin, C.L., Crim, M.J. and Riley, L.K. 2011. *Pneumocystis carinii* infection causes lung lesions historically attributed to rat respiratory virus. *Comparative Medicine*, 61, 45–52.

-Long, G.G. y Hardisty, J.F. 2012. Regulatory forum opinion piece: thresholds in toxicologic pathology. *Toxicologic Pathology*, 40: 1079.

-McInnes E.F, 2005. Artefacts in histopathology. *Comp. Clin. Pathol*; 13: 100-108.

-McInnes, E.F. 2012a. Preface. In: McInnes, E.F. *Background Lesions in laboratory Animals*, Saunders Elsevier, Edinburgh, pp. vii.

-McInnes, E.F. 2012b. Artifacts in histopathology. In: *Background Lesions in Laboratory Animals*, McInnes, E.F. (ed.), Saunders Elsevier, Edinburgh, 93–101.

-McInnes, E.F. y Scudamore, C.L. 2014. Review of approaches to the recording of background lesions in toxicologic pathology studies in rats. *Toxicology Letters*, 229;134–43.

-McInnes E.F. 2017. *Common Spontaneous and Background Lesions in Laboratory Animals. Pathology for Toxicologists: Principles and Practices of Laboratory Animal Pathology for Study Personnel*, First Edition. Edited by Elizabeth McInnes. John Wiley & Sons Ltd. Published 2017 by John Wiley & Sons Ltd.

-OCDE. Organization for Economic Co-operation and Development -Principles on Good Laboratory Practice.

-Olfert E.D., Cross B.M., Mc William A.A. 1998. *Guide to the care and use of experimental animals*, Vol 1. 2nd ed. Ontario: Canadian Council on Animal Care; p. 211.

-Ramachandran J, Ramakrishna B, Eapen CE, Abraham P, Zachariah UG, Jayram A, Mathews M, Kurian G, Mukopadhy A, Chandy G.J. 2008. Subacute hepatic failure due to hepatitis E. *Gastroenterol Hepatol*. Jun;23(6):879-82. Doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.05205. x. Epub 2007 Nov 7. PMID: 17995944.

-Sacco SC, Belotti EM, Notaro U, Pautasso C, Bertona J, Salinas F, Canal AM, Rey F, Salvetti N, Ortega HH. 2017. Infecciones respiratorias asociadas a *Mycoplasma pulmonis* y *Cilia-Associated Respiratory Bacillus* en ratas de laboratorio: diagnóstico e importancia de la enfermedad. V Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión. FCV-UNL.

-Sacco SC, Belotti EM, Bertona JJ, Salinas JF, Salvetti NR, Ortega HH. 2018. Color doppler, ultrasound and pathologic features of spontaneous Leydig Cell Carcinoma of testis in Balb/c CmedC mice. 2018 ACVP (American College of Veterinary Pathologists) and ASVCP (American Society for Veterinary Clinical Pathology) Concurrent Annual Meeting.

-Sacco SC, Belotti EM, Notaro US, Sánchez Córdoba ID, Salvetti NR, Ortega HH.2019. Analysis and importance of background lesions of the rat and mouse heart: preliminary result. Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACYTAL). S A I C. S A F E. S A B. SAP. AACYTAL. NANOMED-AR. HCS. Revista Medicina, vol 79. Supl. IV – 2019. Pp. 236.

-Sacco SC, Belotti EM, Pereyra EAL, Sánchez Córdoba ID, Neme L, Rebelindo E, Ortega HH, Salvetti NR. 2019. Dermatitis ulcerativa en ratones Balb/c Cmedc: reporte de 3 casos. VII Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión de la FCV-UNL. FAVE – Sección Ciencias Veterinarias 19 (2021) Suplemento Jornadas FCV-UNL 2019 DOI: <https://doi.org/10.14409/favecv.v19isuplemento.10939> Versión impresa ISSN 1666-938X; Versión digital ISSN 2362-5589.

-Sacco SC, Belotti EM, Notaro US, Arnodo V, Ortega HH, Salvetti NR. 2020. Importancia del patólogo veterinario y el diagnóstico histopatológico en ensayos preclínicos. II reunión científica internacional VII reunión científica regional VI congreso nacional de ciencia y tecnología de animales de laboratorio. Revista informativa de la Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio. ISSN 2718 7683. Número: 46. DIC 2020.

-Sacco SC, Belotti EM, Hunziker B, Bando JY, Arnodo V, Notaro U, Ortega HH, Salvetti NR. 2021. Trombosis atrial en ratones BALBc / Cmedc: reporte de tres casos. “XII Reunión Argentina de Patología Veterinaria” (RAPAVE 2021) y el “14° Seminario de la Fundación CL Davis-SW Thompson en Argentina”. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Balcarce. Online. 10 a 14 de octubre de 2021.

-Sacco SC^{1, 2}, Arnodo V¹, Belotti EM^{1, 2}, Notaro U¹, Chiaraviglio JA^{1, 2}, Rebelindo E¹, Salvetti NR¹, Ortega HH¹. BALB/cCmedC. XIII Reunión Argentina de Patología Veterinaria 2023. 17° Seminario de la Fundación C.L. Davis - S.W. Thompson. 4-5 y 6 de octubre de 2023.

- Shackelford, C., Long, G., Wolf, J., Okerberg, C., Herbert, R. (2002). Qualitative and quantitative analysis of nonneoplastic lesions in toxicology studies. *Toxicol Pathol* 30, 93–96.
- Shire J.G.M. 1984. Studies on the inheritance of vaginal septa in mice, a trait with low penetrance. *J Reprod Fertil* 70;333–339.
- Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, et al. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicol Pathol*. 2010;38(7 Suppl):5S-81S. doi:10.1177/0192623310386499.
- Tsong-Keng C., Peiyin H., Chung-Tiang L., y Chun-Keung Y. 2013. Effects of Vaginal Septa on the Reproductive Performance of BALB/cJNarl Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. Sep; 52; 520–523.
- Ward J.M., Schofield P.N., & Sundberg J.P. (2017). Reproducibility of histopathological findings in experimental pathology of the mouse: a sorry tail. *Lab animal*, 46(4), 146-151.
- Zuñiga J, Tur M, Milocco S, Piñeiro R. 2001. Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. México: McGraw-Hill. Interamericana; p. 682.
- Sitio web: www.goreni.org. global open RENI. The standard reference for nomenclature and diagnostic criteria in toxicologic pathology.2019.

VI. ANEXO



Oferta de monitoreo sanitario para bioterios

Desde el Centro de Medicina Comparada del Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (CMC-ICIVET Litoral) queremos ofrecer un servicio de monitoreo sanitario patológico sin costo destinado a la evaluación sanitaria de animales de laboratorio que se produzcan en bioterios del país. Estas actividades se enmarcan en el plan de trabajo de la beca posdoctoral de CONICET denominada "Estandarización en los estudios histopatológicos en ensayos preclínicos de alta complejidad con animales de laboratorio: Desarrollo de protocolos y validación de los resultados bajo los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio-OCDE".

Objetivo del Proyecto:

Las lesiones "background" (incidentales) se han descrito como una matriz de variaciones individuales dentro de un rango de referencia aceptado y más específicamente son definidas como hallazgos que generalmente se consideran como un cambio en la morfología del tejido fuera del rango normal de variación para una especie o cepa en particular. Los cambios de "background" pueden ser congénitos o hereditarios, variaciones normales de hallazgos que son exclusivos de una especie o cepa, relacionados alteraciones de diversos orígenes al envejecimiento normal y cambios fisiológicos. Los cambios de "background" pueden ser confundidos durante la evaluación histopatológica con lesiones producidas por sustancias evaluadas en ensayos de toxicidad y preclínicos, por lo cual, es fundamental conocer la prevalencia de estos hallazgos en las distintas colonias de animales destinados a investigación. El objetivo de este estudio es hacer un relevamiento de estos hallazgos en bioterios de Argentina. Para ello, el CMC ofrece el servicio de diagnóstico de anatomopatológico para determinar las lesiones "background" encontradas en ratas, ratones y conejos de bioterios del sistema científico tecnológico del país.

Destinatarios:

Bioterios de Argentina que produzcan ratas, ratones y conejos. Los interesados deben contactarse para luego enviar animales vivos, sanos, de todas las edades y de ambos sexos que no hayan sido sometidos a ningún tipo de tratamiento ni protocolo experimental. Cuando se envíen animales de diferentes edades los mismos deben remitirse con una clara identificación. Una vez arribados al CMC, los animales serán evaluados en su estado general, luego se realizará la eutanasia, necropsia completa, toma de muestras para técnicas complementarias y evaluación patológica.

Servicio ofrecido:

El servicio sin costo incluirá la necropsia completa, análisis histopatológico, y hematológico en los animales remitidos. Se enviará un informe de los animales estudiados con los resultados de hallazgos individuales y una interpretación global de los mismos. El envío de los animales será responsabilidad y estará a cargo de la institución que los remite, por lo cual, el CMC no se hará cargo del mismo. Desde el CMC se asegura la confidencialidad de la información obtenida.



Envío de los animales:

Para el envío de animales al CMC será necesario completar la planilla de remisión que se adjunta con la mayor cantidad de datos posibles. El responsable de la remisión de los animales será la persona a la cual se le informen los resultados del monitoreo. En el caso de remitir animales de más de 1 especie o cepa debe completarse una planilla de remisión individual por especie o cepa. El personal del CMC se pondrá en contacto con el responsable del envío para confirmar la recepción de los animales y posteriormente los resultados de los análisis. El envío deberá ser coordinado por el remitente hasta las instalaciones del CMC en la Ciudad de Esperanza, Santa Fe.

Procedimiento:

1. Contactarse con patologia@cmc.unl.edu.ar quien coordinará el medio y momento de envío de los animales para garantizar que arriben a las instalaciones cuando haya personal para recibirlos.
2. Una vez coordinado el envío de los animales remitir la planilla adjunta completa por email indicando la cantidad de animales y todos los datos requeridos. Agregar un número de teléfono celular para eventualidades.
3. Avisar al momento del envío de los animales, fecha y hora, medio de transporte y responsable de su ingreso al transporte. Junto con los animales debe estar la misma planilla enviada, con las firmas correspondientes.
4. Una vez que los animales llegan a las instalaciones del CMC se enviará la confirmación de la recepción.
5. Una vez realizados los análisis, el interesado recibirá un informe completo emitido por el CMC con el detalle de lo realizado y los hallazgos.

Para más información y coordinar envíos contactarse con:

patologia@cmc.unl.edu.ar

Dirección para el envío de los animales:

Dr. Hugo H. Ortega
Centro de Medicina Comparada. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNL.
RP ~~Kreder~~ 2805. ESPERANZA.
CP 3080. Santa Fe.

1-Institución a la que pertenece el bioterio de origen (nombre, dirección y tel.):

2-Responsable del Bioterio (nombre, apellido y correo electrónico):

3-Responsable de la remisión (cargo, nombre, apellido y correo electrónico):

4-Fecha de remisión (día/mes/año):

5-Medio de transporte de los animales:

6-Número total de animales remitidos:

7-Especie y cepa/raza (datos de origen):

Identificación de los animales remitidos:					
Animal	Especie y cepa/raza	Sexo	Edad (días)	Datos de origen de la cepa/raza	Observaciones
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

En el caso de necesitar más filas puede agregarlas. Indicar en observaciones toda la información que considere relevante, incluyendo si es animal de stock, reproductor, etc.

	<p>CENTRO DE MEDICINA COMPARADA Planilla para la remisión de animales para Monitoreo Sanitario.</p>	
---	--	--

Para completar en destino (CMC):

Responsable de la recepción (nombre, ~~apellido~~):.....

Fecha de recepción (día/mes/año):

.....

Hora de recepción:

.....

Conformidad del monitoreo patológico de los animales remitidos: Por medio de la presente doy mi conformidad para el monitoreo patológico de los animales remitidos.

.....
Firma de Responsable del Bioterio (institución de origen)

.....
Firma de responsable de recepción (CMC)