

Identificación de parásitos gastrointestinales en ratas de laboratorio

Hernández, S¹; Acuña, A²; Puppo, T³; Paparamborda, M³; y Elhordoy, D.⁴

RESUMEN

Con el fin de identificar los parásitos gastrointestinales en las colonias de ratas de laboratorio de 6 bioterios mixtos y de experimentación de Montevideo, se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, durante el primer semestre de 1998. El tamaño de la muestra para estimación de proporciones se determinó en 120 ratas. Se realizó un muestreo aleatorio por conglomerado, considerando cada caja un conglomerado, con un promedio de 5 ratas por caja. Se obtuvo de cada rata un pool de 3 muestras de materia fecal para examen coproparasitario por los métodos de Ritchie, Willis y examen directo. La prevalencia de parásitos gastrointestinales fue 56.6%. El 70% de los animales parasitados correspondieron a bioterios mixtos y el 30% a los de experimentación. Las principales especies encontradas fueron: PROTOZOOS (41%): *Giardia muris*, *Trichomonas muris*; NEMATODES (56.6%): *Syphacia muris* y *Aspicularis tetraptera*; CESTODES (16.6%): *Hymenolepis nana*. El 100% de las ratas parasitadas tenían nemátodos, solo el 20% de estas fueron infecciones únicas; el 51% presentaron asociaciones entre nemátodos y protozoos y el 29% nemátodos, cestodos y protozoos.

Palabras clave: Parásitos gastrointestinales, bioterios, ratas.

SUMMARY

In order to identify endoparasite infections in rat colonies of six laboratory animal facilities, a descriptive research was carried out, in Montevideo, Uruguay, during the first semester of 1998. A sample of 120 rats was selected at random by conglomerate. Each box containing five rats, was considered a conglomerate. 120 faecal samples were studied using Ritchie, Willis and direct methods. The prevalence of gastrointestinal parasites was 56.6%. The main species were PROTOZOA (41%): *Giardia muris* and *Trichomonas muris*; ROUNDWORMS (56.6%): *Syphacia muris* and *Aspicularis tetraptera*; TAPEWORMS (16.6%): *Hymenolepis nana*. Of the parasited rats 100% were infected with roundworms; 20% of this presented only one kind of parasites, 51% were infected with both: roundworm and protozoa and 29% presented roundworms, tapeworms and protozoa altogether.

Key words: Gastrointestinal parasites, rats, animal laboratory facilities.

INTRODUCCIÓN

La determinación del estado de salud y condición genética de los animales de laboratorio que se utilizan como reactivos biológicos, es el fundamento para la obtención de resultados confiables, reproducibles y comparables, en las pruebas de diagnóstico investigación y controles de calidad en las que se requiere el uso de estos animales (1,2)

En animales de laboratorio los procesos patológicos presentan características específicas debido a la

obligada concentración y al manejo a que son sometidos. Es por ello que son mucho más frecuentes los contagios a partir de un foco primario (3).

Las parasitosis gastrointestinales (protozoos y helmintos) son una de las afecciones más comunes en las ratas de los bioterios (4,5,6)

Los protozoos *Spiroucleus muris*, *Giardia muris*, *Trichomonas muris* y *Entamoeba muris*, son causa de muertes esporádicas y alta mortalidad post-destete. Son los primeros en

aparecer en una colonia, cuando se rompen las barreras sanitarias y se propagan rápidamente, por lo que se hace muy difícil su erradicación (5). Desde hace más de 20 años diversos autores entre ellos Mac Donald y Ferguson, 1978 y Oldman et al. 1979 demostraron que *Giardia muris* y *Spiroucleus muris* intervienen en la modificación de la respuesta inmune (4, 5).

Los helmintos nemátodos: *Syphacia muris*, *Syphacia obvelata* y *Aspicularis tetraptera*, son altamente

¹ DMTV. Bioterio. Instituto de Higiene/Fac. de Medicina

² DM. Cátedra y Dpto. de Parasitología/Fac. de Medicina

³ DM. Cátedra de Medicina Preventiva y Social/Fac. de Medicina

⁴ DV. Departamento de Reproducción/ Fac. de Veterinaria

infectantes, generalmente no son patógenos, pero pueden transmitir, provocar o exaltar las enfermedades bacterianas y virales, suprimir el desarrollo tumoral y la respuesta humoral (7,8). Provocan en sus huéspedes, alteraciones del metabolismo y pérdida de peso (5).

Los helmintos cestodos: más relevantes son *Hymenolepis diminuta* e *Hymenolepis nana* (9,10). *Hymenolepis diminuta* es un parásito específico de los roedores y raramente del hombre. Tiene un ciclo evolutivo indirecto. Los huéspedes intermediarios son artrópodos coprófilos (pulgas, cucarachas, gorgojos de la harina y larvas de otros insectos). *Hymenolepis nana*, puede tener un ciclo evolutivo directo o indirecto (5), es de gran importancia por tratarse de una zoonosis (Chandler & Head, 1961; Sasa, 1962; Stone & Monwell, 1966; Oldham, 1967; Bisseru, 1967) (5). La ausencia de este parásito es un requisito fundamental de toda colonia convencional (2,5).

Debido a la resistencia adquirida, en la mayoría de los casos los animales parasitados no presentan signos clínicos (3,5). Varios autores han confirmado que estas infecciones inaparentes pueden conducir a errores de interpretación y afectar el resultado de muchas investigaciones, predisponer a otras enfermedades y alterar la respuesta inmune (Bisseru, 1967; Blair et al. 1968; Harwel and Boyd, 1968; Chowanice et Goordall, 1973; Pearson y Taylor, 1975; Bieniek and Tober-Meyer, 1976; Mayer and Pappos, 1976; Kyow and Oo, 1976). Mc Nair y Timmons en 1977 encontraron que las mismas interfieren en la ganancia de peso, velocidad de crecimiento, peso relativo de órganos y desarrollo de tumores (5,7).

La entrada de estos agentes y su instalación en las colonias, no solo depende del agente etiológico y del

hospedero, sino que está directamente condicionada a las características del ambiente que los rodea (3,5). La presencia o ausencia de las parasitosis depende en gran medida de los elementos que integran el macroambiente (temperatura, humedad, ventilación, control de vectores) y el microambiente (caja, cama, bebedero, densidad animal, agua y comida); así como a las prácticas de manejo a las que son sometidos.

En los países desarrollados, los problemas parasitarios han sido superados por los avances tecnológicos, el uso de cepas libres de patógenos específicos, la rigurosidad de los controles y la calidad de las instalaciones.

En el Reino Unido en 1976, en 67 colonias de ratas de criaderos comerciales el 28% de las colonias estaban infectadas por *Entamoeba muris*, *Spironucleus muris* y *Trichomonas muris*; 10% por *Giardia muris* y 39% por *Syphasia muris* y *Aspicularis teráptra* (14). En Estados Unidos, durante 1986, en 18 colonias de criaderos acreditados se encontró que el 24% estaban parasitadas por *Entamoeba muris*, 17% por *Spironucleus muris* y *Trichomonas muris*; 11% por *Giardia muris* y 17% por *Syphasia muris* y *Aspicularis teráptra* (5).

En los países en desarrollo solo en Argentina existen antecedentes al respecto: durante el período 1993-1996 en un total de 198 colonias de ratas, el 7% estaban parasitadas por *Giardia muris*, 11% por *Spironucleus muris*, 19% por *Syphacia muris*, y 7% por *Aspicularis tetráptra* (4).

Dado que en nuestro país no se encontraron antecedentes al respecto, se decidió realizar el presente estudio con el objetivo de identificar los parásitos gastrointestinales presentes en las ratas de los bioterios de la Facultad de Medicina de Montevideo, durante el primer semestre de 1998.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población de estudio estuvo constituida por las ratas, cepa Wistar de 1 a 24 semanas de edad correspondientes a los 6 bioterios, de la Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo Uruguay.

Como "Bioterio" se consideró el lugar físico donde se crían, manejan, utilizan y controlan las ratas de laboratorio destinadas a servir de reactivos biológicos (3). De acuerdo al tipo de barrera los 6 bioterios son convencionales o sin barrera, y en base al objetivo de su diseño 2 son de experimentación y 4 mixtos (producción o cría y experimentación) (3,7). El tipo de estudio fue descriptivo, de corte transversal. El tamaño de la muestra fue de 120 ratas, para estimación de una proporción (11), con un nivel de confianza de 95%, precisión 10% y proporción estimada 0.5. El muestreo fue aleatorio por conglomerado (15), se consideró cada caja un conglomerado. Se tomaron al azar 4 cajas por bioterio y se seleccionaron al azar 5 ratas por caja.

Los animales fueron colocados en cajas individuales durante 4-5 horas hasta la deposición de la materia fecal (aproximadamente 4 gr). Se tomaron 3 muestras, en días alternos con las que se hicieron un pool; cada muestra se identificó por bioterio, N° de caja y edad de las ratas. Se conservaron en formol al 10% a 4°C hasta su análisis coprológico. Las técnicas empleados para identificación de protozoarios fueron: examen coproparasitario directo para la visualización de trofozoitos y la técnica de enriquecimiento por sedimentación de Ritchie para visualización de ooquistes. La identificación de huevos de nemátodos y cestodos se realizó por el método de concentración por

flotación de Willis (12,13). Todas las muestras fueron realizadas por duplicado y observadas en microscopio binocular Nikon Labophot a 200 x y 400 x. Se tomaron fotografías de los parásitos

prevalencia más elevada en los bioterios mixtos podría deberse a la mayor concentración de animales, a la presencia de todos los grupos etarios, y a la mayor proporción jóvenes, que son los más susceptibles (3,5,20). En

lo que aumenta la probabilidad de reinfección (Sasa et al 1962; Behenke, 1975; Flynn 1976 y Weber, 1976), razón esta que podría explicar su mayor tasa de prevalencia. Tanto los nemátodos como los protozoarios son los primeros en aparecer en una colonia cuando se rompen las barreras sanitarias o las prácticas de higiene son deficientes. Las ratas parasitadas por *Giardia muris* pertenecían a 2 bioterios mixtos.

La presencia de *Hymenolepis nana* en uno de los bioterios mixtos representa un elemento relevante a considerar por ser un agente de zoonosis, que puede constituir un problema de salud pública (Stone and Manwell, 1966; Bisseru, 1967). Es indicador de fallas en el control de vectores, problemas en el almacenamiento o elaboración de la ración o malas prácticas de manejo. La contaminación puede producirse del operador al animal o viceversa (3,7,9).

De los animales parasitados el 20% tuvieron infecciones únicas y el 80% asociaciones parasitarias: 51% a protozoarios y nemátodos: *Giardia muris*/*Syphacia muris* (10 casos); *Giardia muris*/*Aspicularis tetráptera* (20 casos) y el 29% a protozoos, nemátodos y cestodos: *Trichomonas muris*/*Syphacia muris*/*Hymenolepis nana* (20 casos). Estas asociaciones coinciden con las notificadas por otros autores (10,14).

Las especies de nemátodos identificadas en los bioterios de experimentación fueron las mismas que en los bioterios mixtos, las ratas parasitadas por *Syphacia muris* e *Hymenolepis nana* pertenecían a un bioterio mixto.

En relación a la distribución de los animales parasitados por edad en semanas, el 30% fueron menores de 4; el 37% entre 4 y 9 semanas; el 26% entre 10 y 14; y el 7% mayores de 14 semanas. Estos hallazgos podrían estar relacionados con la mayor susceptibilidad de los jóvenes,

Cuadro I. Parásitos gastrointestinales según clase en ratas cepa Wistar, Bioterios de Facultad de Medicina, Montevideo, 1998

CLASE PARASITARIA	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
PROTOZOOS	50	41.6%
NEMATODES	68	56.6%
CESTODES	20	16.6%

Fuente: Bioterios / Fac de Medicina, 1998
n= 120

encontrados (Anexo 1).

La información obtenida se procesó en Excel 97. Se calcularon las medidas de resumen para cada variable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 120 muestras de materia fecal analizadas, el 56.66% (68) fueron positivas para parásitos gastrointestinales.

El tamaño de las colonias no permitió realizar el monitoreo parasitológico mediante autopsia de los animales, por lo que la prevalencia obtenida puede ser inferior a la real. Se trató de solucionar el subdiagnóstico por ciclos de eliminación de huevos y quistes de helmintos y protozoos con periodos negativos en las heces mediante el esquema de recolección de materia empleado.

Los bioterios mixtos tuvieron el 60% de los animales parasitados y los de experimentación el 50%. La tasa de

algunos casos en particular se agrega el hecho de algunos de los bioterios comparten el mismo espacio físico para la producción y la experimentación, condición que facilitaría la exposición y reinfección. Las prevalencias por clase parasitaria, fueron 41.6% a protozoarios; 56.6% a nemátodos y 16.6% a cestodos (tabla I).

Las especies de Protozoos identificadas fueron *Giardia muris* 25% (30 casos) y *Trichomonas muris* 16.6% (20 casos); las de Nemátodos: *Syphacia muris* 40% (48 casos) (foto N°1) y *Aspicularis tetráptera* 16,6% (20 casos) (foto N° 2) y de Cestodos: *Hymenolepis nana* 16.6%

(20 casos) (foto N°3).

La presencia de mayor número de ratas parasitadas por nemátodos (56.6%), puede deberse a la gran resistencia y sobrevivencia de los huevos en el ambiente (10,14). *Syphacia muris* tiene un ciclo evolutivo más corto que el de *Aspicularis tetráptera*,

menor desarrollo del aparato inmunitario (12) y por la inmunidad adquirida de los adultos (5). Las ratas menores de 10 semanas fueron las que presentaron mayor frecuencia de asociaciones parasitarias. En el cuadro 2 se puede observar la distribución de los parásitos gastrointestinales por especie según edad de las ratas.

CONCLUSIONES

La prevalencia de parásitos gastrointestinales en ratas de bioterios de la Facultad de Medicina en el primer semestre de 1998 fue de 57%. Las principales especies identificadas fueron Protozoos: *Giardia muris* y *Trichomonas muris*; Nemátodos: *Syphacia muris* y *Aspiculuris tetráptera*; Cestodos: *Hymenolepis*

nana. En el 100% de las ratas parasitadas se determinó la presencia de nemátodos: 20% en forma exclusiva y en el 80% en asociaciones parasitarias, 51% de las parasitosis fueron asociaciones a nemátodos y protozoarios y 29% a nemátodos, protozoarios y cestodos.

Es de fundamental importancia implementar medidas para erradicar de las colonias los parásitos

Cuadro 2: Parasitos gastrointestinales, por especie, según edad de ratas cepa Wistar, Bioterios de la Facultad de Medicina, Montevideo, 1998

EDAD (en semanas)	ESPECIES									
	<i>Giardia muris</i>		<i>Trichomonas muris</i>		<i>Syphacia</i>		<i>Aspiculuris Tetráptera</i>		<i>Hymenolepis nana</i>	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 - 3	10	40	---	---	20	80	---	---	---	---
4 - 9	10	33	10	33	15	50	10	33	10	33
10 - 14	8	18	10	22	10	22	8	18	10	22
15 y	2	10	---	---	3	15	2	10	---	---

Fuente: Bioterios / Fac. de Medicina 1998

Nota: *Los % fueron calculados sobre el total de ratas parasitadas por grupo etario.

zoonóticos. Debido a la elevada prevalencia de gastrointestinales, encontramos aconsejable realizar monitoreos periódicos y los tratamientos específicos correspondientes.

Se plantea la necesidad de continuar los estudios para conocer las relaciones posibles entre la presencia de parásitos gastrointestinales y las características del macro y microambiente de los bioterios, así como las prácticas de manejo de los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.- Canadian Council on Animal Care, 1984. Guide to care and use of experimental animals vol I, Ontario: Canadian Council on Animal Care, 120p

2.- Veterinary Public Health Reports, 1980. Guidelines for breeding and care of laboratory animals, Roma, Ed. World Health Organization (WHO) International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS), 173p

3.- Saiz Moreno, L.; García de Osmá, J.L.; Compaire, C. 1983. Animales de laboratorio, cría, manejo y control sanitario. Madrid, Ed. Servicio de Publicaciones Agrarias, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 596p

4.- Carbone, C; Ayala, M, 1990. Relevamiento de nemátodos, cestodos y ácaros en colonias de roedores. IX seminario Militar de Veterinaria, Buenos Aires, Argentina. 110p

5.- Percy, D; Barthold, S; 1995. Pathology of laboratory Rodents and Rabbits, Iowa, Ed. Iowa State University Press-Ames, USA, 229p.

6.- Foster, H; Small, J; 1982. The mouse in biomedical research, vol II. Diseases American College of Laboratory Animals

Medicine series. New York, Ed. Academic Press, 240p

7.- Mrad, A; Rosenkranz, A; 1990. Guía para el uso de animales de laboratorio. Parte I. Bogotá, Ed. Dpto de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Ciudad Universitaria, Bogotá, Colombia, 65p.

8.- Retemberg, E; Kruyt, B; 1990. Effect of intestinal flagellates in immune response in mice. *Parasitology*; vol 71: 44-48

9.- Taff, L; 1976 Further studies on efficacy of thiabendazole given in the diet of mice infected with *Hymenolepis nana*, *Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetráptera*. *Veterinary Record*, vol. 99 (8): 21-25..

10.- Taff, L. 1976. Pinworm infections in laboratory rodents: a review. *Laboratory Animals*, 10: 1-13.

11.- Luna del Castillo, J.; Martín Andres, A; 1990. Y ahora ¿cuántos individuos tomo? Algunas ideas básicas sobre el tamaño de la muestra: I. Tamaño de

muestras en un problema de estimación. *Atención Primaria*, vol. 7 (1):80-155.

12.- **Salvatella, R; Eirale, C; 1996.** Examen Coproparasitario. Metodología y Empleo. Revisión Técnico Metodológica, *Rev. Med. Uruguay*, vol. 12: 215-223.

13.- **Thiepont, D; Rochette, F. Vamparijs, J; 1986.** Diagnosing

helminthiasis by coprological examination, 2nd. edition, Belgium. Ed. *Jansen Research Foundation, Beerse*, 70p

14.- **Sparrow, S; 1976.** The microbiological and parasitological status of laboratory animals from accredited breeders in the United Kindom. *Laboratory animals*, 10: 365-73.

15.- **Pineda, E; de Alvarado E; 1994.** Metodología de la Investigación. 2ª edición, OPS/OMS. Publicación PASCAP, serie *PALTEX*, 122p.

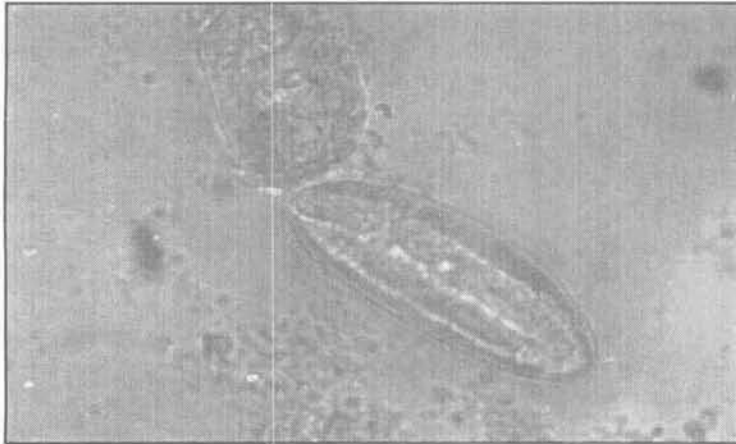


Foto 1: Huevo de syphacia muris, 400x



Foto 2: Huevo de Aspicularis tetráptera, 400x

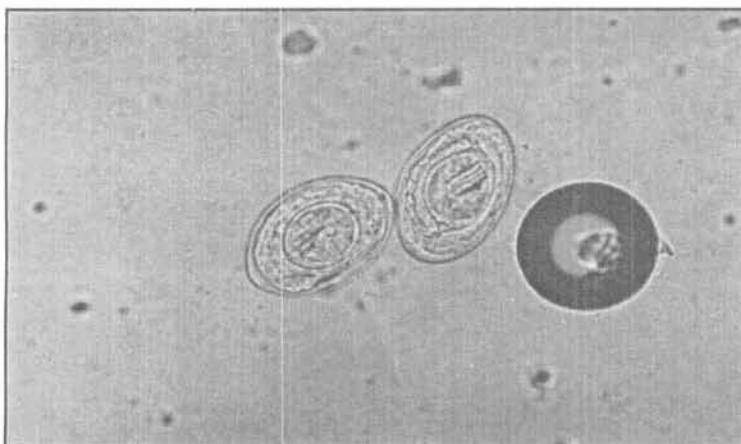


Foto 3: Huevos de Hymenolepis nana, 400x