

Artículo de investigación

PREVALENCIA Y GRADO DE PARASITACIÓN POR FLAGELADOS ENTÉRICOS EN RATONES NMRI, C57BI/6 Y Balb/c.

PREVALENCE AND DEGREE OF PARASITATION BY ENTERIC FLAGELATES IN MICE NMRI, C57BI/6 AND Balb/c.

Fuentes M^{1*}, Sánchez-Acedo C², Quílez J.²

1. *Doctor en Patología Animal. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Ciencias Veterinarias. Venezuela. 0424-5127574. monicafuentes@ucla.edu.ve
2. Prof. Doctor Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. España.

Resumen

Con el objetivo de analizar la prevalencia y grado de parasitación por flagelados entéricos en ratones NMRI, C57BI/6 y Balb/c, discriminando en base a la cepa, edad y sexo de los animales producidos convencionalmente en el Bioterio de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (Venezuela), se seleccionaron 50 ratones por cada cepa y sexo, 10 por edad (3, 5, 7, 9 y 14 semanas) (N=300). Se recogieron por duplicado muestras de heces frescas y de contenido intestinal en tres tramos diferentes (duodeno, yeyuno-íleon y ciego), para observación directa y frotis teñido con Giemsa. Los datos fueron analizados con Chi-cuadrado, U de Mann-Whitney, Prueba de Kruskal-Wallis, correlación de Spearman y análisis factorial. *Giardia muris* se localizó en ciego de los ratones NMRI (100%) y en 99% de los C57BI/6 y Balb/c. En yeyuno-íleon en 89% de los C57BI/6, 84% de NMRI y 46% de Balb/c; y en duodeno, en los machos C57BI/6 (73%), en los que aumenta la prevalencia con la edad. Se identificó *Trichomonas muris* en 58-76% de las tres cepas con la máxima prevalencia en machos NMRI y C57BI/6. *Spironucleus muris*, solo se identificó en 70% de los NMRI de 6 semanas. La cepa menos parasitada es la Balb/c. Existen diferencias significativas en la prevalencia de las tres parasitosis entre las cepas estudiadas, en *Giardia* diferencias entre las edades en NMRI y C57BI/6 y en *Trichomonas* entre ambos sexos. Existen diferencias significativas en la prevalencia de las tres parasitosis entre las cepas estudiadas, en *Giardia* diferencias entre las edades en NMRI y C57BI/6 y en *Trichomonas* entre ambos sexos. Se recomienda tomar en cuenta la cepa de los animales producidos y/o empleados en investigación, su sexo y edad para establecer los controles sanitarios dirigidos a flagelados entéricos.

Palabras Clave: *Giardia muris*, *Trichomona muris*, *Spironucleus muris*., C57BI/6, Balb/c

Abstract

In order to analyze the prevalence and parasitation degree by enteric flagellates in NMRI, C57BI/6 and Balb/c mice, discriminating on the basis of strain, age and sex of animals produced conventionally in animal facilities of the Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (Venezuela), 50 mice were selected by strain and sex, and 10 by age (3, 5, 7, 9 and 14 weeks) (N = 300). They were sampled both fresh feces and intestinal contents at three different sections (duodenum, yeyuno-ileon and cecum), for direct observation and smears stained with Giemsa. The data was analyzed with Chi-square, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis test, correlation of Spearman and factor analysis. *Giardia muris* was located at cecum of NMRI mice (100%) and 99% of C57BI/6 and Balb/c. At yeyuno-ileon in 89% of C57BI/6, 84% of NMRI and 46% of Balb/c; and at duodenum, in male C57BI/6 (73%), which increases the prevalence with age. *Trichomonas muris* was identified in 58-76% of the three strains with the highest prevalence in males NMRI and C57BI/6. *Spironucleus muris*, only 70% of the six-weeks-old NMRI were identified. The less parasitized strain is the Balb/c. There are significant differences in the prevalence of three parasitic diseases among the strains studied, about *Giardia* there are differences between the ages in the NMRI and C57BI/6 and about *Trichomonas* between both sex. It is recommended to consider animals strain produced and/or used in research, their sex and age in order to establish the sanitary controls aimed to enteric flagellates.

Key Words: *Giardia muris*, *Trichomona muris*, *Spironucleus muris*., C57BI/6, Balb/c.

Recibido: 04-06-2015.

Aceptado: 29-02-2016

INTRODUCCIÓN

Dentro de los protozoos flagelados entéricos, las especies más importantes en animales de laboratorio, específicamente en ratón, rata y hámster son: *Giardia muris*, *Spironucleus muris* y *Trichomonas muris*. En un estudio realizado en ratones libres de gérmenes patógenos (SPF), 70,8% presentaron flagelados: *Trichomonas muris* (31,5%), *Trichomonas sp* (29,6%), *Chilomastix becentourti* (18,5%), *Octomitus intestinalis* (7,8%), *Giardia muris* (6,9%), *Spironucleus muris* (4,1%), *Entamoeba muris* (14,8%); estando la mayoría parasitados por 2 a 5 especies [1]. En 13 Bioterios de Brasil se reporta *Spironucleus muris* (46,2%); *Giardia muris* (46,2%); *Tritrichomonas muris* (53,8%); *Trichomonas minuta* (61,5%); *Hexamastix muris* (7,7%); *Entamoeba muris* (84,6%) en ratones [2].

Giardia muris: se localiza en intestino delgado [3]. Su incidencia es alta sobre todo en Bioterios convencionales siendo más receptivos los ratones Balb/c y C3H [4]. La mayor morbilidad y mortalidad se ha observado en ratones atómicos [5]. Se señalan diferencias significativas en relación con la cepa de ratones consanguíneos [6,7]. Parasita tanto a jóvenes como adultos [3]. *Spironucleus muris* (*Octomitus muris* o *Syndyomita muris* o *Hexamita muris*): se localiza en la porción posterior del intestino delgado. Se considera la segunda especie de flagelado más frecuente en roedores de laboratorio [4]. Los jóvenes son los más receptivos [8]. Frecuentemente, se observa la parasitación conjunta por *S. muris*, y *G. muris*. Las condiciones de manejo y ambientales como alta concentración de animales en las jaulas y animales recién destetados, son factores que favorecen la infección [9]. Cuando la temperatura en los Bioterios es alta, desciende sensiblemente la infección [10]. La presencia de *G. muris* y *S. muris* interfiere los resultados obtenidos en las investigaciones [4] y genera interacción con parásitos sanguíneos como *Babesia* y *Plasmodium*, y la disminución de éstos se acompaña de descenso de ambos flagelados entéricos [11]. El diagnóstico puede

realizarse por observación microscópica de los trofozoítos en examen directo de heces [3].

Trichomonas muris: se localiza principalmente en ciego, colon e intestino delgado [12]. Se considera no patógena a pesar de su alta incidencia. Se diferencia fácilmente por el pequeño tamaño de los trofozoítos, el movimiento en zig-zag y la presencia de membrana ondulante [5].

El presente estudio se realizó con el objetivo de analizar la prevalencia de flagelados entéricos en ratones NMRI, C57Bl/6 y Balb/c, discriminando en base a la cepa, edad y sexo de los animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una investigación analítica, de campo longitudinal, en los ratones de las colonias del Bioterio Central de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), mantenidos en condiciones convencionales, a una temperatura de 22-27°C y humedad relativa de 45-65%, con lecho a base de tusa de maíz, alimento concentrado comercial (Ratarina, 26% de Proteína), agua filtrada y clorada. El tamaño de la muestra se calculó en base a las recomendaciones de Nicklas et al. [13], seleccionando 10 animales de cada sexo y edad (3, 5, 7, 9 y 14 semanas), por cada una de las cepas (NMRI, C57Bl/6, Balb/c), para un total de 300 ratones. Se recolectaron muestras de heces antes de practicar eutanasia por anestesia con éter. Posteriormente de cada animal se recogieron muestras de intestino (duodeno, yeyuno-íleon y ciego), para realizar observación directa y frotis teñido con Giemsa al 10% por 15 minutos, previa fijación con Fixcell, (producto comercial en spray a base alcohólica), de todas la muestra por duplicado. Los datos se estructuraron en rangos, basados en los valores mínimos y máximos obtenidos, considerando una infección según el N° de trofozoítos/20 campos como leve (1-15), moderada (16-30), alta (>30) para *Giardia* y de leve (1-10), moderada (11-20), alta (>20) para *Trichomona* y *Spironucleus*. Se analizaron a

través de Chi-cuadrado, U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, comparando los grupos por sexo, cepa y edad. Para la correlación entre la presencia de flagelados, sexo y edad, se utilizó correlación de Spearman y para determinar el efecto individual y combinado de las variables, se empleó un análisis multivariable o factorial, empleando el paquete estadístico SPSS. 15.0, con un nivel de significancia de $P < 0,05$ y $P < 0,01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prevalencia de *Giardia muris*: la relación entre prevalencia de *G. muris* y edad de los animales varía en función de la cepa. En los NMRI la prevalencia aumenta con la edad con diferencias significativas al comparar los animales de 14 semanas (100%) y 3 semanas (60%) ($P < 0,05$). Por el contrario, en los C57Bl/6, sucede lo contrario, a las 14 semanas la prevalencia es del (50%) y del (100%) en los de 3 semanas ($P < 0,01$). En

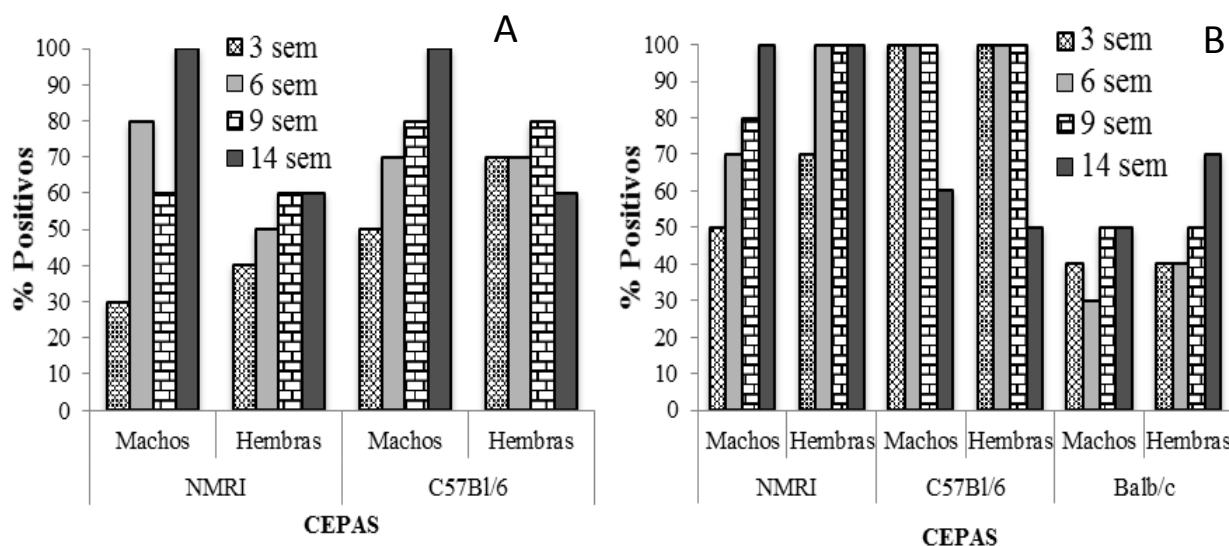
los Balb/c, la prevalencia de infección se incrementa ligeramente a las 9 semanas (50%) y en las hembras a las 14 (70%), sin diferencias estadísticas.

En duodeno: es mayor en C57Bl/6 (73%) que en NMRI (60%) y Balb/c (0%), ($P < 0,01$). En C57Bl/6 y NMRI, es ligeramente superior en los machos (Figura 1A) y tiende a incrementarse con la edad, alcanzando el 100% en los machos de 14 semanas.

En Yeyuno-Íleon (YI): se identificó en las tres cepas de ratones, siendo más alta en C57Bl/6 (89%), seguido de los NMRI (84%) y Balb/c (46%) ($P < 0,01$). No existió correlación con el sexo, excluyendo la NMRI en los que la prevalencia es superior en las hembras ($P < 0,05$), (Figura 1B).

En Ciego: se multiplica activamente identificándose en todos los animales, exceptuando un macho Balb/c de 3 semanas.

Figura 1. A. Prevalencia de *Giardia muris* en duodeno. B. Prevalencia de *Giardia muris* en Yeyuno-Íleon. Cepa, sexo y edad de los animales



Grado de parasitación por *Giardia muris*

Ratones NMRI: *Giardia muris*, se aisló en la totalidad de las muestras (100%) en ciego, con diferencias significativas al comparar YI

y duodeno ($P < 0,01$), tanto en machos como en hembras, independientemente de la edad. En ciego se concentra mayor número de trofozoítos de *G. muris* que en YI y duodeno ($P < 0,01$), circunstancia que se repite en todas las edades y ambos sexos,

Flagelados entéricos en ratones NMRI, C57Bl/6 y Balb/c

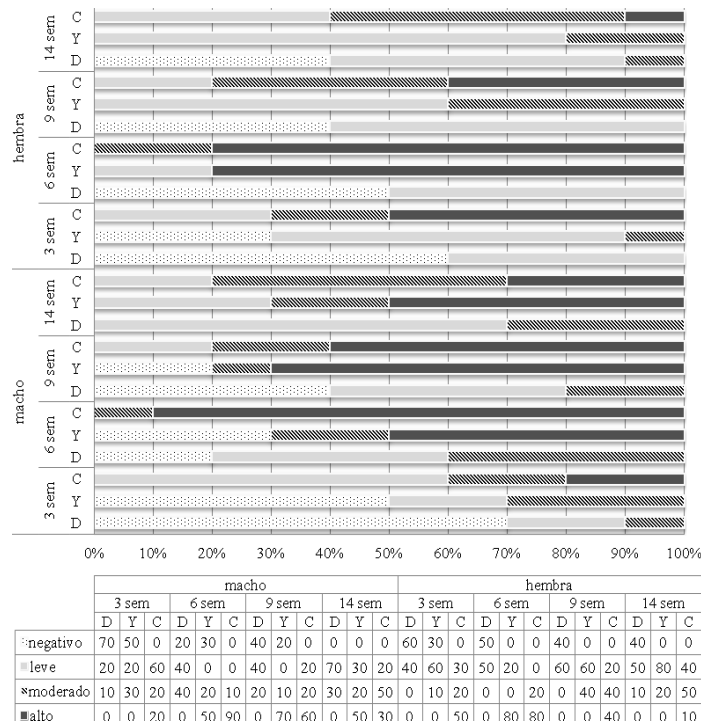
ligeramente superior en machos que en hembras (39,9±20,6 vs 30,7±15,3), sin diferencias estadísticas (Tabla I, Figura 2).

Tabla I. Grado de parasitación por *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones NMRI. Sexo y edad de los animales

Edad (semanas)	Ratones NMRI					
	N° ejemplares de <i>Giardia muris</i> /ratón (media±DS)					
	Machos			Hembras		
	D	YI	C	D	YI	C
3	11,3±6,0	19,4±9,2	15,9±13,8	7,3±1,7	9,1±6,4	29,4±22,1
6	16,1±8,6	34,9±7,1	76,4±30,9	8,4±4,3	35,9±15,8	46,7±16,8
9	12,7±7,2	46,9±13,5	39,2±23,0	10,7±2,7	15,3±9,0	27,2±14,2
14	12,6±8,7	25,0±16,2	28,2±14,9	11,3±4,9	10,3±6,5	19,3±8,1
Total	13,2±7,6	31,6±11,5	39,9±20,6	9,4±3,4	17,7±9,4	30,7±15,3

D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Figura 2. Prevalencia y grado de parasitación por *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones NMRI.



D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego.

El grado de parasitación por *G. muris* en duodeno varía en relación con el sexo ($P<0,05$) y la edad al comparar ratones de 3 semanas con los de 6 y 14 semanas ($P<0,05$); en yeyuno e íleon entre los de 3 semanas y otras edades ($P<0,05$), y en ciego entre los de 6 semanas con respecto al resto ($P<0,05$). El análisis factorial indica que la presencia de *G. muris* en duodeno está influenciada por el sexo y la edad en los NMRI ($P<0,05$), y la edad con la presencia en YI y ciego ($P<0,01$). La combinación de sexo y edad tiene efecto sobre la presencia en YI ($P<0,05$). La correlación es moderada entre duodeno y YI ($r=0,432$; $P<0,01$) y entre yeyuno y ciego ($r=0,339$; $P<0,05$).

Ratones C57Bl/6: se identificó 100% en ciego, con diferencias con respecto a otras localizaciones ($P<0,01$). En el 100% de 3 a 9 semanas se aislaron trofozoítos en YI. En relación con el grado de parasitación las diferencias no son significativas entre las tres zonas analizadas ni entre ambos sexos (Tabla II). A pesar de que *Giardia muris* se localiza preferentemente en ciego, el grado de parasitación más alto se detecta en

duodeno (20%) y YI en hembras de 6 semanas. En todos los grupos se detectan infecciones moderadas (Figura 3). La edad ejerce un efecto sobre la presencia en YI y ciego ($P<0,05$) y la combinación edad/sexo sobre el aislamiento en duodeno ($P<0,05$). La correlación es baja y negativa ($r=-0,275$; $P<0,05$) entre edad y el aislamiento en YI.

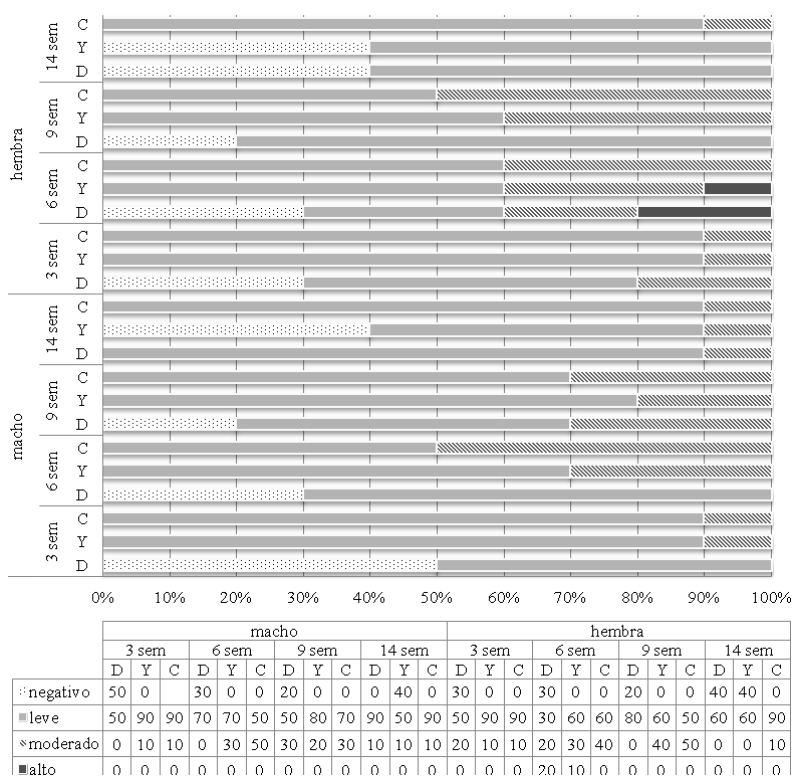
Ratones Balb/c: *Giardia muris* se localiza preferentemente en ciego, 98% en machos y 100% en hembras, con diferencias ($P<0,01$) en YI y duodeno, localización esta última donde no se identificaron trofozoítos en ningún animal ($P<0,01$). El grado de parasitación también es muy superior en ciego con respecto a duodeno y YI ($P<0,01$), independientemente de la edad y el sexo (Tabla III), aunque el recuento de trofozoítos en ciego está correlacionado con la edad, ($P<0,05$) y existe efecto de la edad sobre el aislamiento en el ciego ($P<0,01$). La infección es moderada, principalmente en ciego y la máxima se produce a las 6 semanas de edad (70%) (Figura 4).

Tabla II. Grado de parasitación por *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones C57Bl/6. Sexo y edad de los animales

Edad (semanas)	Ratones C57Bl/6					
	N° ejemplares de <i>Giardia muris</i> /ratón (media±DS)					
	Machos			Hembras		
	D	YI	C	D	YI	C
3	4,0±1,6	9,8±3,7	9,6±4,3	13,1±5,1	8,6±5,3	7,2±5,9
6	8,9±3,5	13,2±6,8	13,3±6,5	19,6±14,0	16,7±8,0	14,9±7,1
9	14,1±7,6	12,8±5,0	13,4±4,9	3,5±3,0	13,1±5,5	15,4±7,7
14	10,9±3,1	11,7±5,1	10,9±4,0	6,7±1,9	9,0±2,6	10,1±3,9
Total	9,5±4,0	11,9±5,2	11,8±4,9	10,7±6,0	11,9±5,4	11,9±6,2

D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Figura 3. Prevalencia y grado de parasitación por *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones C57Bl/6



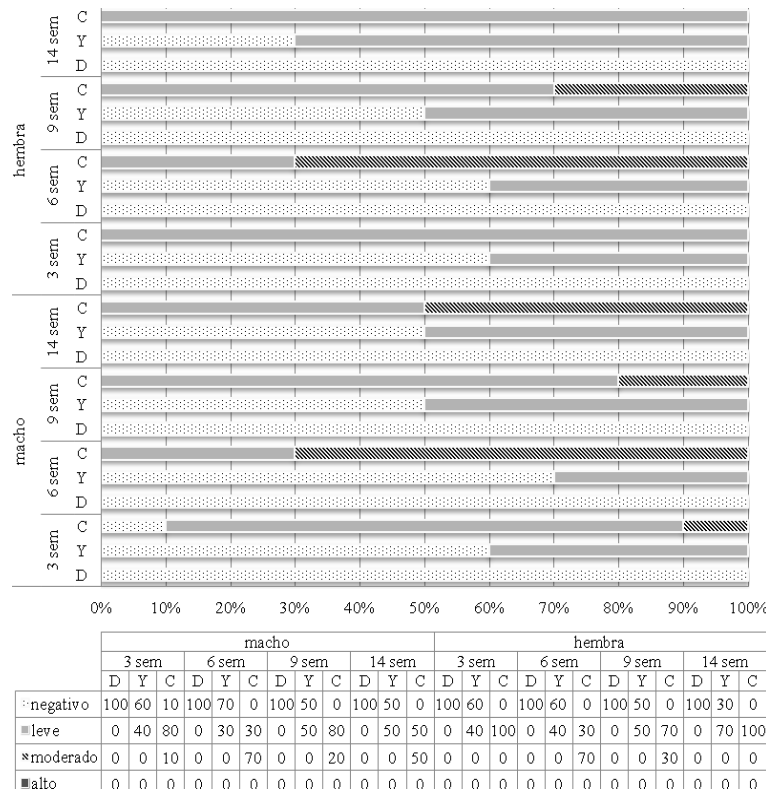
D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Tabla III. Grado de parasitación por *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones Balb/c. Sexo y edad de los animales

Edad (semanas)	Ratones Balb/c					
	N° trofozoítos de <i>Giardia muris</i> /ratón (media±DS)					
	Machos			Hembras		
	D	YI	C	D	YI	C
3	0,0±0,0	4,3±3,6	11,8±2,8	0,0±0,0	1,8±1,0	11,4±2,3
6	0,0±0,0	8,0±3,0	18,6±5,3	0,0±0,0	5,8±3,0	17,5±5,1
9	0,0±0,0	6,2±1,9	13,2±3,5	0,0±0,0	6,0±2,9	13,7±3,5
14	0,0±0,0	5,6±2,4	16,0±6,2	0,0±0,0	3,4±2,1	10,9±1,5
Total	0,0±0,0	6,0±2,7	14,6±4,9	0,0±0,0	4,3±2,3	13,4±3,1

D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Figura 4. Prevalencia y grado de parasitación. *Giardia muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones Balb/c



D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Grado de parasitación por *Giardia muris*.

Comparación de resultados: se localiza preferentemente en ciego donde se produce el grado de parasitación más alto en las tres cepas, siendo mayor en NMRI y C57Bl/6, sin diferencias entre sexos. Si hay diferencias ($P<0,01$), entre NMRI y C57Bl/6, tanto en ciego como en YI ($P<0,01$), y entre NMRI y Balb/c en duodeno, YI y ciego ($P<0,01$) y entre duodeno y YI de los C57Bl/6 y Balb/c ($P<0,01$). El análisis factorial indica la relación entre la edad y el grado de parasitación en YI ($P<0,01$), y de la cepa y el sexo sobre la multiplicación en duodeno ($P<0,05$), así como de la combinación cepa/edad en YI ($P<0,01$) y cepa/sexo/edad en YI ($P<0,05$). Existe una correlación moderada entre la cepa y la presencia de trofozoítos en duodeno ($r=0,486$; $P<0,01$), YI ($r=0,516$; $P<0,01$) y ciego ($r=0,469$; $P<0,01$) y entre YI con

duodeno ($r=0,423$; $P<0,01$) y ciego ($r=0,330$; $P<0,01$). Según un estudio realizado [14] en 80 Bioterios de los Estados Unidos, *Giardia* spp es una de las especies más prevalentes (20%) igualmente *G. muris* en Brasil (46,2%) [2]. Cabe destacar la elevada prevalencia, en el ciego de la totalidad de los ratones independientemente de la cepa, siendo los Balb/c los que registraron los valores más bajos. Se ha destacado en otros estudios la elevada prevalencia en Bioterios convencionales, señalando como más resistentes los ratones DBA/2, B10/A, C57Bl/6 y SJL/2 y más receptivas las cepas Balb/c, C3H/He, A/J y CrI:ICR [4, 6, 7]. Se reporta que los machos eliminan mayor número de quistes en las heces y durante más tiempo que las hembras [15]. *G. muris* puede provocar caída del pelo, distensión abdominal y ocasionalmente diarrea [3]. A este respecto, en ninguno de los ratones

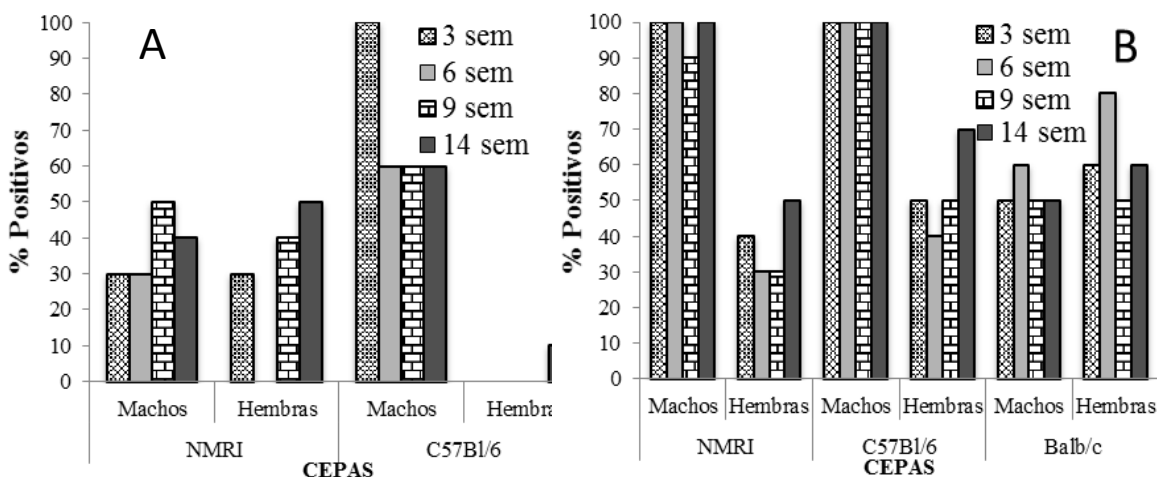
Flagelados entéricos en ratones NMRI, C57Bl/6 y Balb/c

NMRI, C57Bl/6 y Balb/c se observó signos clínicos.

Prevalencia de *Trichomonas muris*: se identificó en las tres cepas. **En duodeno:** se identificó sólo en NMRI (13%), siendo más alta en machos (20%) que en hembras (5%) ($P<0,05$). En machos NMRI, se aisló independientemente de la edad, los de 14 semanas (0%) sí difieren de los de 9 semanas (40%) ($P<0,05$). En hembras solamente están parasitadas las de 3 semanas. **En Yeyuno-íleon:** se aisló en NMRI (41%) y C57Bl/6 (36%), sin diferencias significativas. La totalidad de Balb/c

resultaron negativos ($P<0,01$). La prevalencia es más alta en machos en NMRI y C57Bl/6 ($P<0,05$), existiendo diferencias entre las cepas C57Bl/6 (30% y 3%, respectivamente). En C57Bl/6 la prevalencia es del 100% en machos de 3 semanas (Figura 5A). **En Ciego:** se localizó en NMRI (68%), C57Bl/6 (76%) y Balb/c (58%), con diferencias significativas ($P<0,05$) (Figura 5B). En NMRI y C57Bl/6, la prevalencia es más alta en los machos (98% y 100%), que en las hembras (38% y 53%) ($P<0,01$).

Figura 5. A. Prevalencia de *Trichomonas muris* en Yeyuno-íleon. B. Prevalencia de *Trichomonas muris* en ciego. Cepa, sexo y edad de los animales



Grado de parasitación por *Trichomonas muris*.

Ratones NMRI: la prevalencia es más alta en ciego (68%), seguida de YI (41%) y duodeno (13%), ($P<0,01$), independientemente de la edad, mayor en machos que en hembras ($P<0,05$), especialmente en ciego. El grado de parasitación es mayor en ciego ($P<0,01$), en todos los grupos, con un promedio más alto ($P<0,01$) en los machos (Tabla IV, Figura 6). La parasitación total está relacionada con el

sexo ($P<0,05$), no con la edad. La edad/sexo ejercen un efecto sobre la presencia en YI ($P<0,05$). La correlación entre sexo y presencia en ciego es moderada-alta ($r=0,671$; $P<0,01$), y baja entre YI y ciego ($r=0,217$; $P<0,05$).

Ratones C57Bl/6: según la prevalencia, se localiza en YI (36,2%) y especialmente en ciego (76,25%) ($P<0,01$). Es más alta en machos, independientemente de la localización en YI y ciego ($P<0,01$). El grado de parasitación en ambos sexos es más alto

en ciego, con diferencias con duodeno y YI (P<0,01), aunque el promedio es muy superior en machos (P<0,01) (Tabla V, Figura 7). Hay correlación entre el sexo y la

parasitación en YI (P<0,01) (r=0,693; P<0,01) y ciego (r=0,797; P<0,01), así como entre YI y ciego (r=0,706; P<0,01).

Tabla IV. Grado de parasitación por *Trichomonas muris* (duodeno, yeyuno, íleon y ciego).

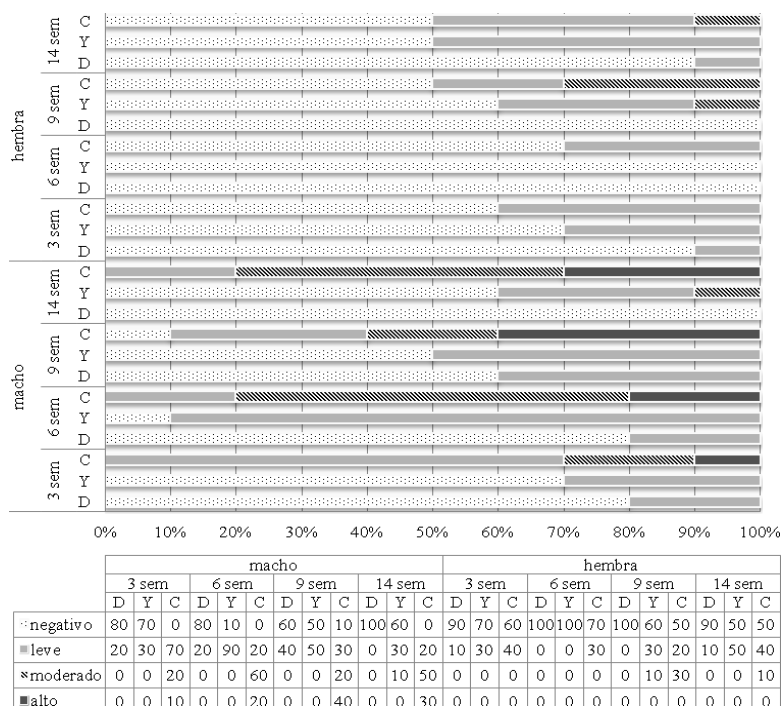
Ratones NMRI. Sexo y edad de los animales

Edad (semanas)	Ratones NMRI					
	N° ejemplares de <i>Trichomonas muris</i> /ratón (media±DS)					
	Machos			Hembras		
	D	YI	C	D	YI	C
3	1,0±0,0	4,3±1,2	10,2±8,6	1,0±0,0	1,0±0,0	4,0±2,9
6	4,5±3,5	4,8±2,0	15,0±8,1	0,0±0,0	0,0±0,0	5,3±1,5
9	3,8±2,8	4,8±1,5	21,0±15,7	0,0±0,0	5,5±3,9	11,2±5,9
14	0,0±0,0	9,5±2,1	17,8±10,0	1,0±0,0	3,4±1,5	8,4±3,0
Total	2,3±1,6	5,9±1,7	12,5±10,6	0,5±0,0	2,5±1,4	7,2±3,3

D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Figura 6. Prevalencia y grado de parasitación por *Trichomonas muris* en duodeno, yeyuno-íleon y ciego.

Ratones NMRI



D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

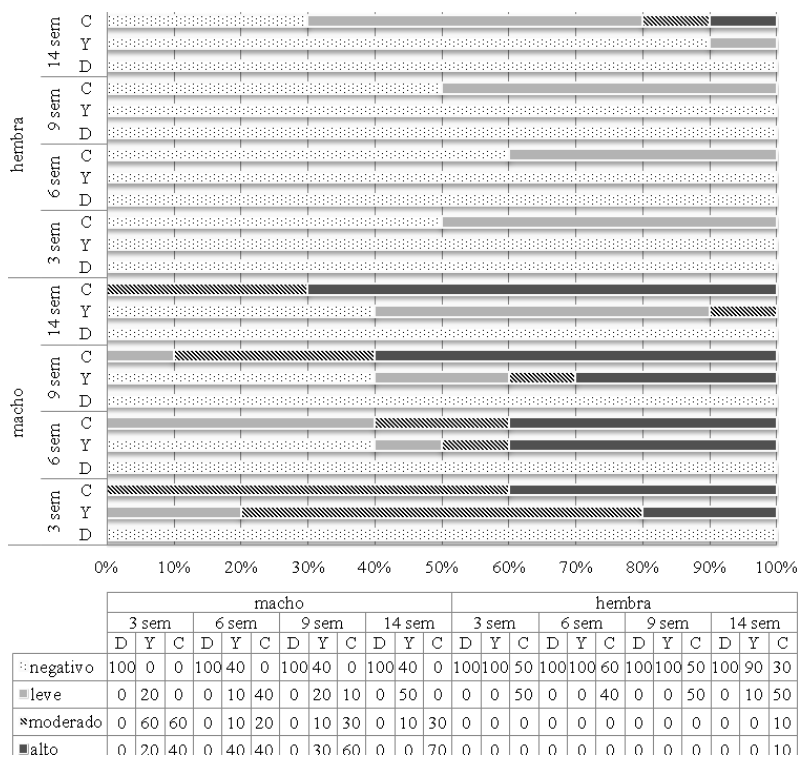
Flagelados entéricos en ratones NMRI, C57Bl/6 y Balb/c

Tabla V. Grado de parasitación de *Trichomonas muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones C57Bl/6. Sexo y edad de los animales

Edad (semanas)	Ratones C57Bl/6					
	N° trofozoítos de <i>Trichomonas muris</i> /ratón (media±DS)					
	Machos			Hembras		
	D	YI	C	D	YI	C
3	0,0±0,0	15,0±5,1	21,2±5,0	0,0±0,0	0,0±0,0	7,2±2,6
6	0,0±0,0	24,0±12,9	24,8±20,2	0,0±0,0	0,0±0,0	8,0±2,2
9	0,0±0,0	18,0±9,3	29,8±17,2	0,0±0,0	0,0±0,0	5,8±2,3
14	0,0±0,0	7,8±3,1	26,2±7,1	0,0±0,0	1,0±0,0	10,6±8,5
Total	0,0±0,0	16,2±7,6	25,5±12,4	0,0±0,0	0,3±0,0	7,9±3,9

D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Figura 7. Prevalencia y grado de parasitación por *Trichomonas muris* (duodeno, yeyuno-íleon y ciego). Ratones C57Bl/6



D= duodeno; YI= yeyuno e íleon; C= ciego

Ratones Balb/c: sólo se identificó en ciego, sin diferencias en la prevalencia ni en el grado de parasitación entre machos (53%) y hembras (63%), pero sí, entre los machos de 6 ($5,0\pm 2,9$) y 9 ($6,4\pm 2,4$) semanas con respecto a los de 3 ($1,8\pm 0,8$) y 14 ($2,6\pm 1,1$) semanas, y entre hembras de 6 ($4,4\pm 2,0$) con respecto a 3, 9 y 14 semanas ($1,8\pm 0,8$, $2,0\pm 0,7$, $2,3\pm 1,0$) ($P<0,05$). El análisis factorial y la correlación no revelan relación de la edad y sexo con el aislamiento en Balb/c, donde el grado de parasitación es leve.

Grado de parasitación por *Trichomonas muris*. Comparación de resultados: en las tres cepas, el grado de parasitación es mayor en ciego, con diferencias significativas entre las cepas, con valores de prevalencia mayores en los C57Bl/6 y especialmente en los NMRI, en comparación con los Balb/c que fueron los menos receptivos con presencia sólo en ciego. Coincidiendo con otros autores [1], se comprobó que en los machos la prevalencia es superior, tanto en C57Bl/6 como NMRI, en las que el porcentaje de machos parasitados duplica como mínimo al de hembras. No se encontró correlación entre la infección por *T. muris* y la edad. Los valores de 58% (Balb/c) y 76% (C57Bl/6), son similares a lo descrito por otros investigadores al identificar *T. muris* (31,5%) y *T. spp.* (29,6%) en ratones SPF [1], y 61% de *T. muris* en Brasil [2].

Existen diferencias en el grado de parasitación, entre NMRI y C57Bl/6 ($P<0,01$) en duodeno y entre NMRI y Balb/c enduodeno ($P<0,01$), YI y ciego ($P<0,01$) y entre los C57Bl/6 y Balb/c en YI y ciego ($P<0,01$). Se evidencia efecto del sexo sobre la prevalencia en duodeno, YI y ciego ($P<0,01$) y del sexo/cepa sobre YI ($P<0,01$). La correlación es baja entre la cepa y localización en duodeno ($r=0,255$; $P<0,01$), YI ($r=0,354$; $P<0,01$) y entre el sexo y la presencia en YI ($r=0,355$; $P<0,01$), moderada entre el sexo y ciego ($r=0,492$; $P<0,01$) y de ciego con YI ($r=0,513$; $P<0,01$).

***Spironucleus muris*:** Los hallazgos revelan que tiene un papel secundario en la parasitofauna, ya que únicamente se identificó en NMRI y con baja prevalencia, sólo en YI de NMRI de 6 semanas (70%), machos ($15,3\pm 8,64$) y hembras ($13,1\pm 7,4$), sin diferencias entre la prevalencia y grado de parasitación (20% en machos y 10% en hembras). El grado de parasitación es alto en el 20% de los machos y 10% de las hembras y moderado en 30% de machos y 40% de hembras, leve en el 20% de ambos sexos. Según diversos investigadores, es el segundo flagelado que parasita a los roedores de laboratorio, localizado principalmente en la porción posterior del intestino delgado [4, 8, 16]. La receptividad de los animales está relacionada con la cepa [7].

Se ha comprobado que la infección por *S. muris* está relacionada con la edad, ya que ha sido detectada exclusivamente en ratones de 6 semanas con una prevalencia del 70%, tanto en machos como hembras. Los de 3 a 6 semanas son los de mayor riesgo y con presentación aguda con diarrea, pérdida de peso y ocasionalmente muerte o formas crónicas asociadas a ligera pérdida de peso [3]. Se ha señalado el poder patógeno de *S. muris*, aunque los síntomas son más frecuentes en jóvenes, sometidos a estrés, ratones atímicos e inmunosuprimidos, donde se agudizan los síntomas alcanzando mayor mortalidad (20-50%) [5]. La recuperación es más rápida en Balb/c y más lenta en la C57Bl/6 [8]. En inmunocompetentes la infección generalmente es subclínica [16], como lo observado en el presente estudio.

CONCLUSIONES

En los ratones del estudio, prevalecen como especies de protozoos flagelados *Giardia muris*, *Trichomonas muris*, y *Spironucleus muris*, en ratones NMRI, C57Bl/6 y Balb/c de 3-14 semanas de edad. *G. muris* y *T. muris* se localizan preferentemente en ciego, son las especies más prevalentes en todas las

cepas. *G. muris* se identificó en todos los animales, mientras que *T. muris* se aisló en 58-76% de las tres cepas. La cepa menos parasitada es la Balb/c. Se recomienda tomar en cuenta la cepa de los animales producidos y/o empleados en investigación, su sexo y edad para establecer los controles sanitarios dirigidos a flagelados entéricos.

AGRADECIMIENTOS

Al CDCHT y al personal del Bioterio Central de la UCLA por su valioso apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Jalili N, Demes P, Holkova R. The occurrence of protozoa in the intestinal microflora of laboratory mice. Bratisl Lek Listy 1989; 90(1):42-44.

[2] Bicalho K, Araújo F, Rocha R., Carvalho O. Sanitary profile in mice and rat colonies in laboratory animal houses in Minas Gerais: I - Endo and ectoparasites. Arq Bras Med Vet Zootec 2007; 59(6):1478-1484.

[3] Percy D, Barthold S. Pathology of laboratory rodents and rabbits. Iowa State University Press/Ames. Primera edición. EEUU. 1993; 229 pp.

[4] Zuñiga J, Turmari J, Milocco S, Piñeiro R. Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. Edit. McGraw-Hill. Madrid. España. 2001.

[5] Goodwin B, Yarbrough L, Head K. Rats and mice: parasitic diseases. Lab Ani Med Sci. Series II. Universidad de Texas Houston. 2000. 30pp.

[6] Venkatesan P, Finch R, Wakelin D. A comparison of mucosal inflammatory responses to *Giardia muris* in resistant B10 and susceptible Balb/c mice. Parasite Immunol 1997;19:137-143

[7] Baker D. , Malineni S, Taylor H. Experimental infection of inbred mouse strain

with *Spironucleus muris*. Vet Parasitol 1998; 77(4):301-310.

[8] Brett S, Cox F. Immunological aspects of *Giardia muris* and *Spironucleus muris* infections in inbred and outbred strains of laboratory mice: a comparative study. Parasitology. 1982a; 8(1):85-99.

[9] Malcolm J, O'Donoghue P. Patología de los animales de laboratorio. Diagnóstico y tratamiento. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 1984. 305 pp.

[10] Sebesteny A. Pathogenicity of intestinal flagellates in mice. Lab Anim 1969; 3:71-77.

[11] Brett S, Cox F. Interactions between the intestinal flagellates *Giardia muris* and *Spironucleus muris* and the blood parasites *Babesia microti*, *Plasmodium yoelii* and *Plasmodium berghei* in mice. Parasitology. 1982b. 85(1):101-110.

[12] Flynn R. Parasites of laboratory animals. Iowa State University Press/Ames. Primera edición. EEUU. 1973; 884 pp.

[13] Nicklas W; Baneux P; Boot R; Decelle T; Deeny A; Fumanelli M; et al. FELASA. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. Lab Ani 2002; 36:20-42.

[14] Carty A. Opportunistic infections of mice and rats: Jacoby and Lindsey Revisited. Ilar J 2008; 49(3):272:276.

[15] Daniels C., Belosevic M. Comparison of the course of infection with *Giardia muris* in male and female mice. Int J Parasitol 1995; 25:131-135.

[16] Institute for Laboratory Animal Research. Companion guide to infectious diseases of mice and rats. Commission on life Sciences. National Research Council. 1991; 108 pp.